Fr 260 (2 (2 a2)

ISBN 2-85653-116-4

MÉMOIRES
DU
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

NOUVELLE SÉRIE

Série B, Botanique

TOME XXVIII

Marie-France ROQUEBERT

ANALYSE DES PHÉNOMÈNES PARIÉTAUX AU COURS DE LA CONIDIOGENÈSE CHEZ QUELQUES CHAMPIGNONS MICROSCOPIQUES

PARIS
ÉDITIONS DU MUSÉUM
38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire (Vᵉ)

1981

Source : MNHN, Paris

ÉDITIONS DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

En vente à la Bibliothèque centrale du Muséum,

38, rue Geoffroy-Saint-Hilaire, 75005 Paris

C.C.P. : Paris 9062-62 Y

Annuaire du Muséum national d'Histoire naturelle (depuis 1939).

Archives du Muséum national d'Histoire naturelle (depuis 1802. In-4°, sans périodicité).

Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle (depuis 1895. Depuis 1979, divisé en 3 sections : A (Zoologie, Biologie et Écologie animales), B (Botanique, Biologie et Écologie végétales, Phytochimie), C (Sciences de la Terre, Paléontologie, Géologie, Minéralogie). 4 livraisons par an.

Les grands Naturalistes français (depuis 1952. Sans périodicité).

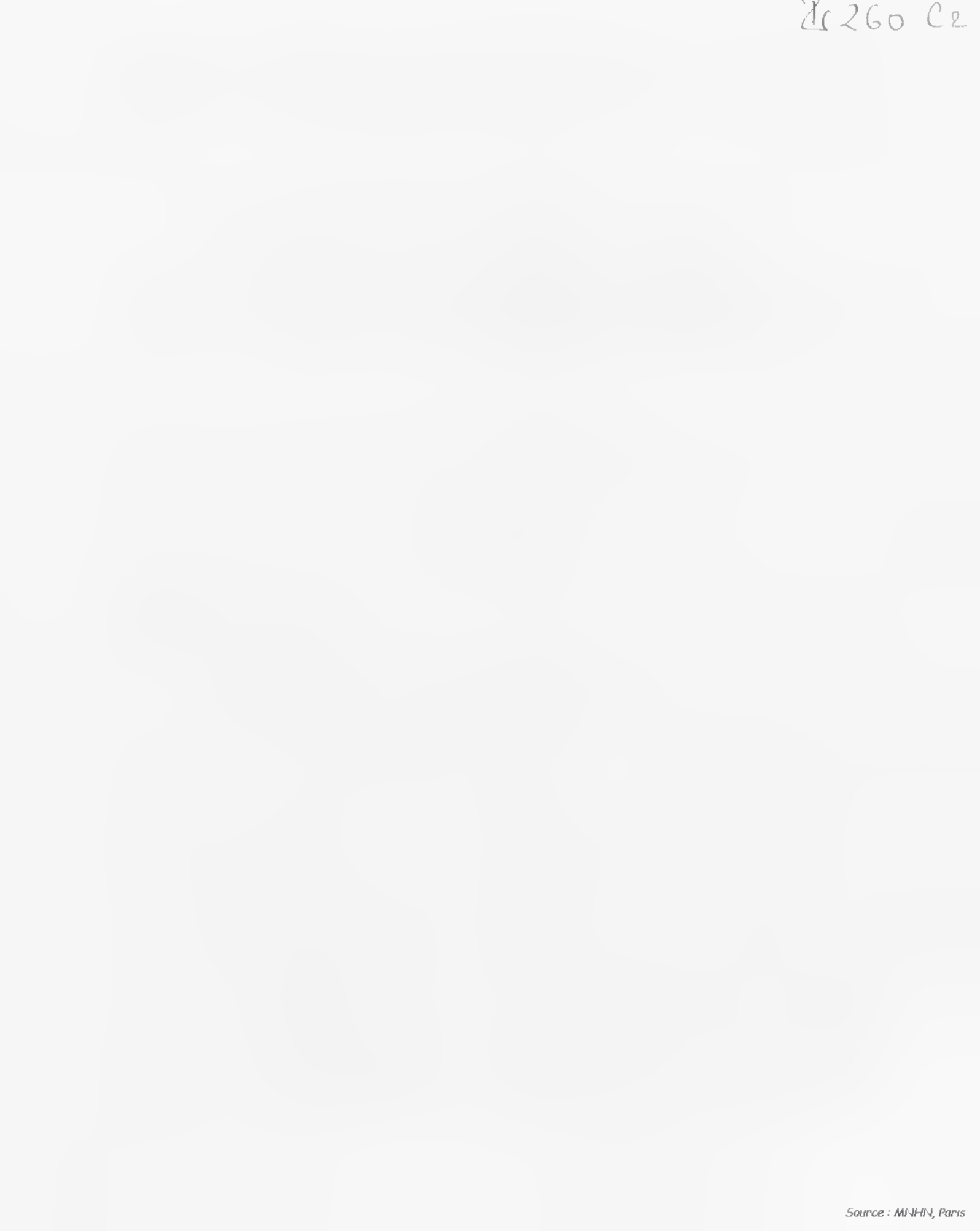
Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle (depuis 1935. Depuis 1950, nouvelle série en 3 (puis 4) parties : A (Zoologie) ; B (Botanique) ; C (Sciences de la Terre) ; D (Sciences physico-chimiques).

Notes et Mémoires sur le Moyen-Orient (depuis 1933. In-4°, sans périodicité).

Publications du Muséum national d'Histoire naturelle (depuis 1933. Sans périodicité).

Source : MNHN, Paris

M260 C2



Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

MÉMOIRES DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
Série B, Botanique, Tome XXVIII

ANALYSE DES PHÉNOMÈNES PARIÉTAUX AU COURS DE LA CONIDIOGENÈSE CHEZ QUELQUES CHAMPIGNONS MICROSCOPIQUES

par

Marie-France ROQUEBERT*

SOMMAIRE

INTRODUCTION 5

MATÉRIEL ET MÉTHODES 7

I. Matériel fongique 7

A. — Formations conidiennes en chaînes basipètes (phialides) 7

B. — Formations conidiennes en chaînes acropètes 9

II. — Techniques 12

A. — Microscope électronique à transmission 12

B. — Microscope électronique à balayage 14

C. — Cultures en chambre gélosée 14

PREMIÈRE PARTIE : LA PAROI DU MYCÉLIUM VÉGÉTATIF 15

I. — Notions fondamentales 15

II. — Observation de la structure pariétale 19

A. — Mycélium hyalin 19

B. — Mycélium dématié 20

III. — Modifications morphogènes de la paroi des hyphes 21

A. — Ramifications 21

1) Données bibliographiques 21

2) Observation de la genèse des rameaux latéraux 22

B. — Cloisonnement 23

1) Données bibliographiques 23

2) Observation de la genèse des cloisons 24

— cloisons hyalines 24

— cloisons dématiées 25

* Laboratoire de Cryptogamie, L.A. 257 (CNRS), Muséum national d'Histoire naturelle, 12, rue de Buffon, 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

DEUXIÈME PARTIE : GENÈSE ET FONCTIONNEMENT DES PHIALIDES 29

I. — Hyphe conidiogène..... 29

A. — Définition. Rappel bibliographique 29

B. — Différenciation..... 31

1) Chronologie de la différenciation..... 31

— *Aspergillus tamarii*..... 31

— *Stilbothamnium nudipes*..... 32

— *Penicilliopsis dichotamus* 33

Discussion 33

2) Cytologie de la différenciation 34

a) Filament conidiophore 34

b) Formation des phialides 34

Aspergillus tamarii..... 34

Penicilliopsis dichotamus 36

Discussion 36

II. — Conidiogenèse basipète..... 38

A. — Définition. Rappel bibliographique 38

B. — Analyse de la conidiogenèse 39

1) *Aspergillus tamarii* 39

— Formation de la première conidie..... 39

— Formation des conidies successives 39

2) *Stilbothamnium nudipes* 43

Discussion 44

III. — Maturation et libération des conidies..... 48

A. — Maturation 48

Stilbothamnium nudipes 48

Aspergillus tamarii..... 49

B. — Libération..... 50

Discussion 50

TROISIÈME PARTIE : FORMATION DES CONIDIES EN CHAÎNES ACROPÈTES ET FONCTIONNEMENT DES CONIDIOPHORES A CROISSANCE INDÉTERMINÉE..... 53

A. — Définition du genre *Cladosporium* Link ex Fr. 54

B. — Observations des phases conidiogènes..... 55

1) Observation en microscopie photonique 55

2) Observation en microscopie électronique..... 56

a) Conidiogenèse acropète 56

b) Fonctionnement des conidiophores..... 57

Cladosporium herbarum 57

Cladosporium cladosporioides..... 58

Discussion 59

CONCLUSIONS..... 65

I. — Mécanismes pariétaux..... 65

II. — Caractéristiques conidiennes 66

III. — Conclusions concernant une classification « naturelle » des champignons..... 67

BIBLIOGRAPHIE..... 73

PLANCHES..... 81

Source : MNHN, Paris

INTRODUCTION

Les champignons filamenteux s'accroissent sur le substrat dont ils dépendent par l'extension de formations mycéliennes appelées *hyphes*.

Ce mode de colonisation du milieu assure la survie d'un organisme dont il peut constituer l'unique moyen de propagation. Dans la majorité des cas, cependant, cette forme végétative très vulnérable sur bien des plans, est accompagnée d'une phase de résistance et de dispersion caractérisée par la formation de *spores*.

Celles-ci constituent une discontinuité dans le développement du thalle fongique dont elles sont issues et qu'elles reproduiront par germination. Ainsi, le développement complet d'un champignon implique une phase végétative mycélienne et une phase reproductrice.

La reproduction peut présenter un caractère sexué ou non sexué, les deux modalités pouvant se produire simultanément sur le même organisme.

Certaines formes fongiques ne possèdent pas, ou ne présentent pas dans les conditions de l'observation, de reproduction sexuée. Elles se multiplient et sont dispersées au moyen de spores mitotiques : *les conidies* produites directement à partir d'un élément mycélien plus ou moins différencié. En raison de l'incapacité dans laquelle nous sommes de les rattacher à une forme sexuée, ces champignons ont reçu le nom de *Champignons Imparfaits* ou *Deutéromycètes*.

Si l'on est en droit d'espérer qu'un certain nombre d'entre eux pourra, au hasard des récoltes ou grâce à des conditions de culture techniquement mieux adaptées, être rattaché à une forme sexuée connue, il est sans doute illusoire de croire que la connexion pourra être réalisée pour toutes les espèces. Cependant, l'importance numérique du groupe (environ 15 000 représentants), leur fréquence, la diversité de leur habitat et l'extrême richesse de leur morphologie obligent à la reconnaissance des *Champignons Imparfaits*.

La première classification établie par SACCARDO à la fin du XIX^{e} siècle reposait sur des caractères purement descriptifs. Avec l'amélioration des techniques d'observation et de culture, on devait, quelques décennies plus tard, compléter ces données par des notions biologiques portant en particulier sur le mode de conidiogenèse. Cette initiative, due principalement à VUILLEMIN, fut le point de départ de la classification actuelle des *Champignons Imparfaits*.

Il est apparu que l'étude à un niveau approfondi des mécanismes de genèse conidienne pourrait valablement contribuer à la systématique des formes de multiplication asexuée. Cependant, les résultats nouveaux obtenus grâce à la microscopie électronique s'intègrent difficilement dans les systèmes proposés.

Cherchant à réaliser une synthèse des données acquises à l'échelle ultrastructurale, nous avons tenté, dans le présent travail, de pousser plus avant la recherche des processus fondamentaux qui réalisent, chez certains *Champignons Imparfaits*, le passage de l'état mycélien à l'état de reproduction asexuée.

Cette évolution est sous la dépendance d'un certain nombre de facteurs, principalement d'ordre génétique, écologique et physiologique. Nous avons choisi de nous attacher à la traduction de ces informations au niveau des parois.

L'analyse fine de l'évolution et de la dynamique des structures pariétales sera donc suivie dans la phase végétative du mycélium, puis au cours de la différenciation morphologique qui précède la phase reproductive et, enfin, lors de la conidiogenèse.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. — MATÉRIEL FONGIQUE

Notre étude de la différenciation et du fonctionnement conidiogénétique a porté principalement sur deux types de formations :

— formation de conidies successives à partir d'une cellule génératrice différenciée, en forme de bouteille, appelée *phialide*. L'élément le plus jeune se trouve situé à proximité immédiate de la cellule sporogène (chaîne *basipète*). Les conidies peuvent rester groupées en chaînes plus ou moins durables ou s'agréger en têtes ;

— formation, à partir d'une cellule faiblement différenciée, d'une conidie unique qui donnera naissance à une conidie secondaire, bourgeonnant à son tour une conidie tertiaire et ainsi de suite tout au long de la chaîne. L'élément le plus jeune se trouve au sommet (chaîne *acropète*).

Le choix des espèces nous a été dicté par leur caractère représentatif du mécanisme étudié et par leur relative fréquence dans la nature, permettant une observation sur le substrat naturel.

A. Formations conidiennes en chaînes basipètes (Phialides)

STILBOTHAMNIUM NUDIPES Haum. (Fig. 1)

S. nudipes est un Hyphomycète séminicole tropical à affinités eurotioïdes. La souche sur laquelle nous avons travaillé a été isolée par Mme J. Nicot, sur graines de *Landolphia* (Apocynacées) en R.C.A. (1969).

L'échantillon original porte à la fois des formes agrégées (corémies), dispersées (mucédies) et des sclérotes.

— Les formes agrégées sont filiformes, atteignant parfois 6 cm de long, larges et cylindriques à la base, se divisant vers le sommet en 2 ou 3 rameaux allongés. Ces corémies, dont l'ensemble présente une coloration jaune dorée, sont hérissées de poils atteignant 1 mm à 1,5 mm, terminés par une petite tête sporifère globuleuse.

L'observation microscopique révèle la nature aspergillaire de ces formations latérales. Elles portent en effet un renflement terminal ampulliforme couvert de phialides (12 × 2 µm), cloisonnées, qui donnent naissance à de fragiles et courtes chaînes de conidies.

Celles-ci ont une base tronquée (7-10 µm × 6-7 µm) et sont arrondies vers le sommet où elles sont alors nettement ornementées. Elles ont une couleur jaune vif.

— La forme mucédinée est constituée d'éléments aspergillaires, de morphologie, de taille et de coloration analogues aux précédents.

Source : MNHN, Paris

— Sur les mêmes graines, on peut observer des sclérotes subglobuleux (3-5 mm), lisses, compacts, de teinte gris-beige, portés par un pédicelle épais. Les coupes que nous avons pu y effectuer révèlent leur caractère stérile et leur constitution plectenchymateuse.

Par sa couleur, l'absence de métules vraies et la formation de sclérotes, l'échantillon étudié, au moins sous sa forme mucédinée, évoque les *Aspergillus* du groupe *glaucus*.

Cependant, l'aspect verruqueux des conidiophores le rapproche de *Aspergillus citrisporus*, dont les têtes conidiennes sont semblables à celles du groupe *glaucus* mais pour lesquels la présence de conidiophores rugueux a conduit Thom et Raper (1945) à effectuer un transfert dans le groupe *tamarii*, puis dans le groupe *ornatus* (Raper et Fennell, 1965).

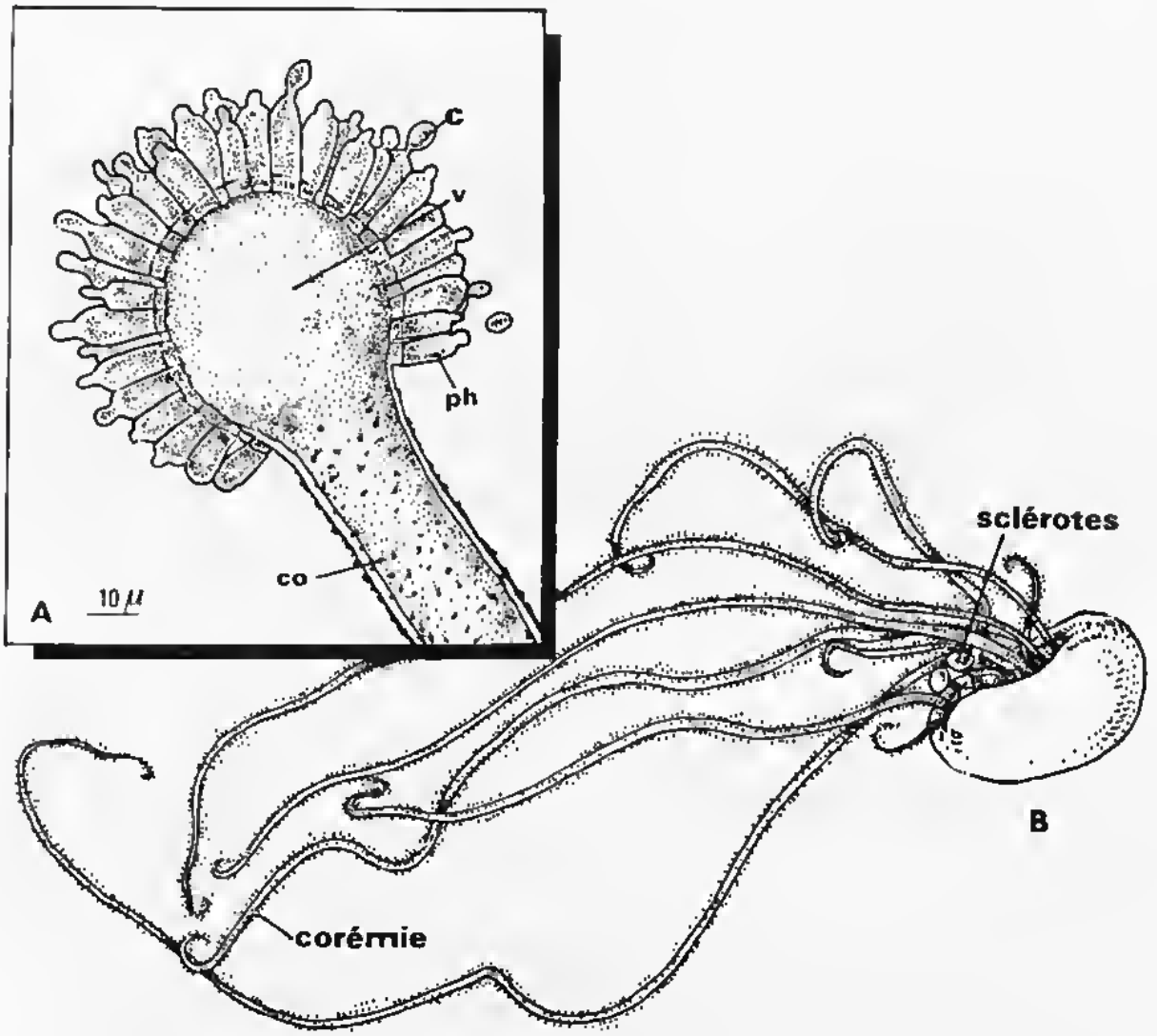


Fig. 1. — *Stilbothamnium nudipes* Haum.

A : Tête conidienne. Le conidiophore (Co) est renflé au sommet en une vésicule porteuse de phialides (ph), cloisonnées à la base ; c : conidie.

B : Champignon sur son substrat naturel : une graine de *Landolphia*.
Les corémies, tapissées de têtes conidiennes s'y développent par groupes. A la base de ceux-ci se forment des têtes dispersées et des sclérotes. G. × 1,5.

Source : MNHN, Paris

Malgré ces ressemblances, il est pourtant douteux que *S. nudipes* soit simplement un *Aspergillus* corémié. Il présente en effet par rapport aux *Aspergillus* typiques, des différences importantes : absence de cellule podale du conidiophore, brièveté et labilité des chaînes conidiennes, sclérotes pédicellés. Il y aurait lieu de le comparer avec l'espèce type du genre : *S. dybowskii* (Pat.) Henn. dont il diffère, entre autres, par la structure des conidiophores et la présence de sclérotes.

Ce dernier trait conduit enfin à rapprocher *S. nudipes* du groupe des *Penicilliopsis* Solms-Laubach ex Saccardo, champignon séminicole ascosporé dont les ascocarpes offrent une grande ressemblance avec les éléments sclérotioïdes de *S. nudipes*.

Dans le cadre du présent travail, nous ne développerons pas plus avant la position systématique du *S. nudipes* et de ses affinités avec les genres voisins. Nous nous proposons de remettre à plus tard, à la lumière d'observations et de récoltes complémentaires, cette révision systématique ébauchée par Hauman (1936).

Les premières étapes de cette démarche nous ont conduite à effectuer des analyses préliminaires portant sur un autre champignon séminicole tropical identifié, *ad interim*, comme *Penicilliopsis dichotomus* Haum.

Récoltée en 1968 sur le même substrat, en R.C.A., par M^me^ J. Nicot, la souche est cultivée au laboratoire depuis son isolement. Elle présente un mycélium jaune ocre qui tourne vers le brun au bout de 30 jours de culture. Les corémies, rares, dressées, sont simples puis ramifiées vers le quart supérieur ; elles portent des conidiophores latéraux courts, organisés en pinceaux comme l'indique le nom du genre. A leur sommet, ils donnent un éventail de phialides au nombre de 6 à 8. Dans un même verticille, certaines cellules sporogènes produisent, en culture, des spores caténées allongées (30 µm × 4 µm) tandis que les voisines forment des séries de conidies ovales (8 µm × 3,5 µm) aplaties aux deux extrémités.

Nous rapporterons ici seulement les résultats concernant le mode de formation des phialides d'un même verticille au sommet du conidiophore.

ASPERGILLUS TAMARII Kita. (Fig. 2)

La souche d'*A. tamarii* a été également isolée par M^me^ J. Nicot sur olives en conserve (mycothèque n° 1934).

Ce champignon appartient au groupe *flavus* (Raper et Fennell, 1965) caractérisé par des conidiophores rugueux et des têtes conidiennes uni- ou bisériées, les deux types cohabitant d'ailleurs parfois, sur la même ampoule fertile.

En culture il offre une pigmentation caractéristique allant du jaune vert au brun sombre.

Les conidies, groupées en chaînes persistantes sont, au sortir de la phialide, allongées en forme de tonnelets ; à maturité, elles s'arrondissent et acquièrent une ornementation plus marquée. Elles mesurent environ 5,5 à 6,6 µm de diamètre. Contrairement à certains représentants du groupe, notre souche n'a jamais formé de sclérotes.

Nous avons choisi cette espèce en raison de la persistance des formations conidiennes caténées qui contraste avec la labilité observée chez *S. nudipes*, de la rapidité du développement en culture et, enfin, de la stabilité apparente des caractères morphologiques au cours des repiquages successifs.

B. — Formations conidiennes en chaînes acropètes du type cladosporium

La relative fréquence des *Cladosporium* sur les substrats végétaux nous a conduite à n'utiliser pour les observations de structure que du matériel frais, directement prélevé sur l'hôte.

CLADOSPORIUM HERBARUM (Pers.) Link ex S. F. Gray (Fig. 3)

A la surface des pétioles de *Juglans* où nous l'avons récolté, le champignon se manifeste sous forme de taches noires visibles à l'œil nu. Observées à la loupe, ces macules sont constituées de fila-

Source : MNHN, Paris

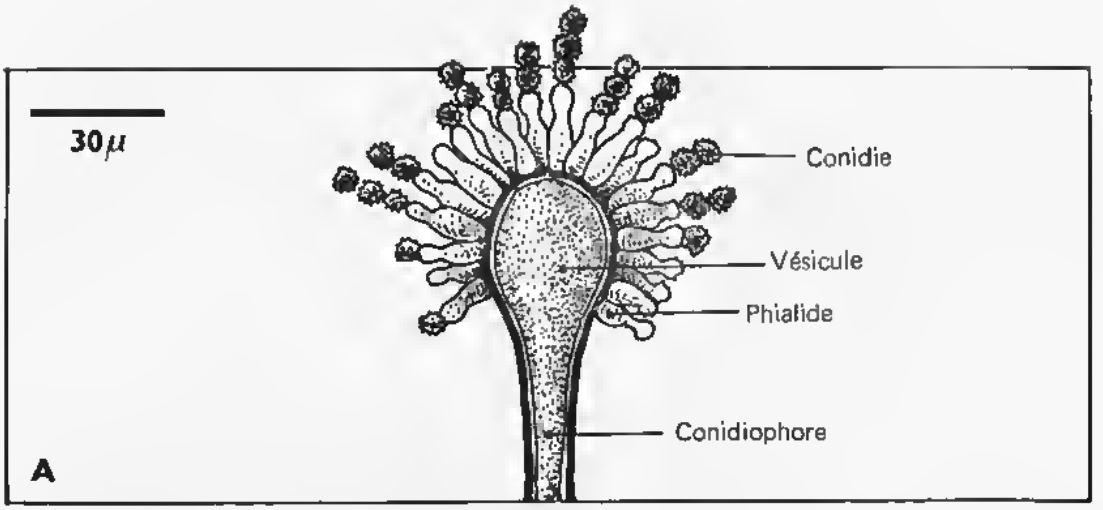
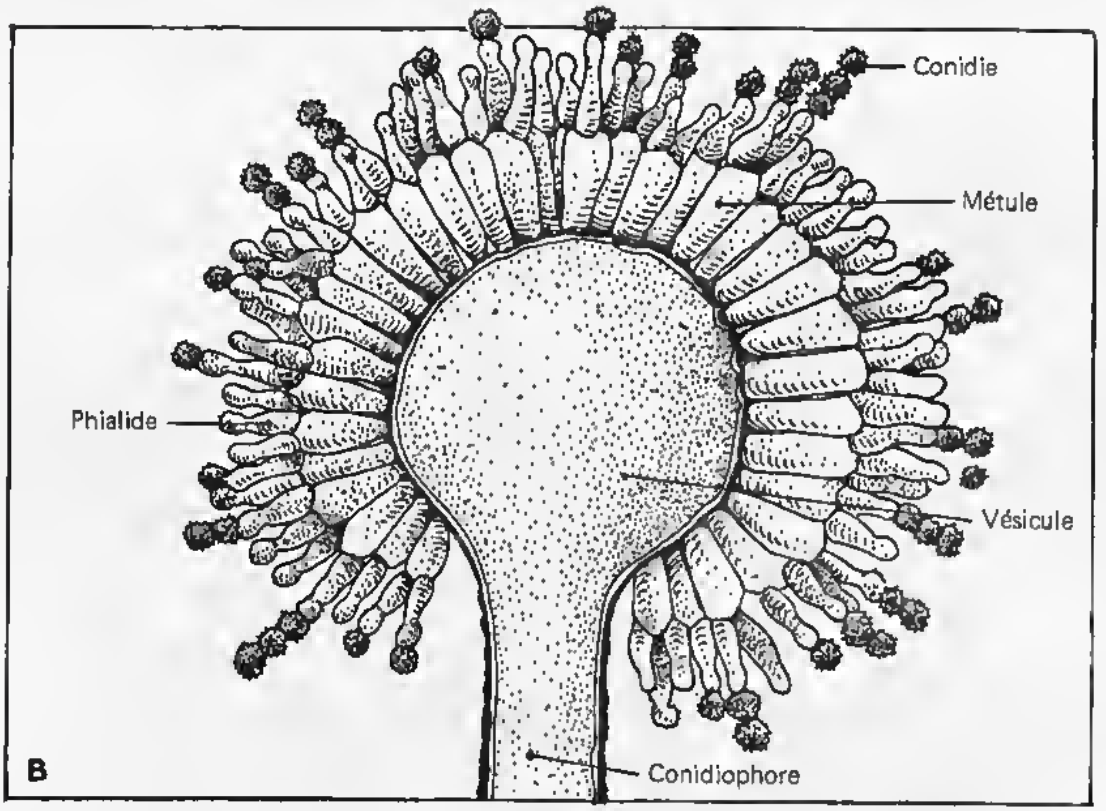


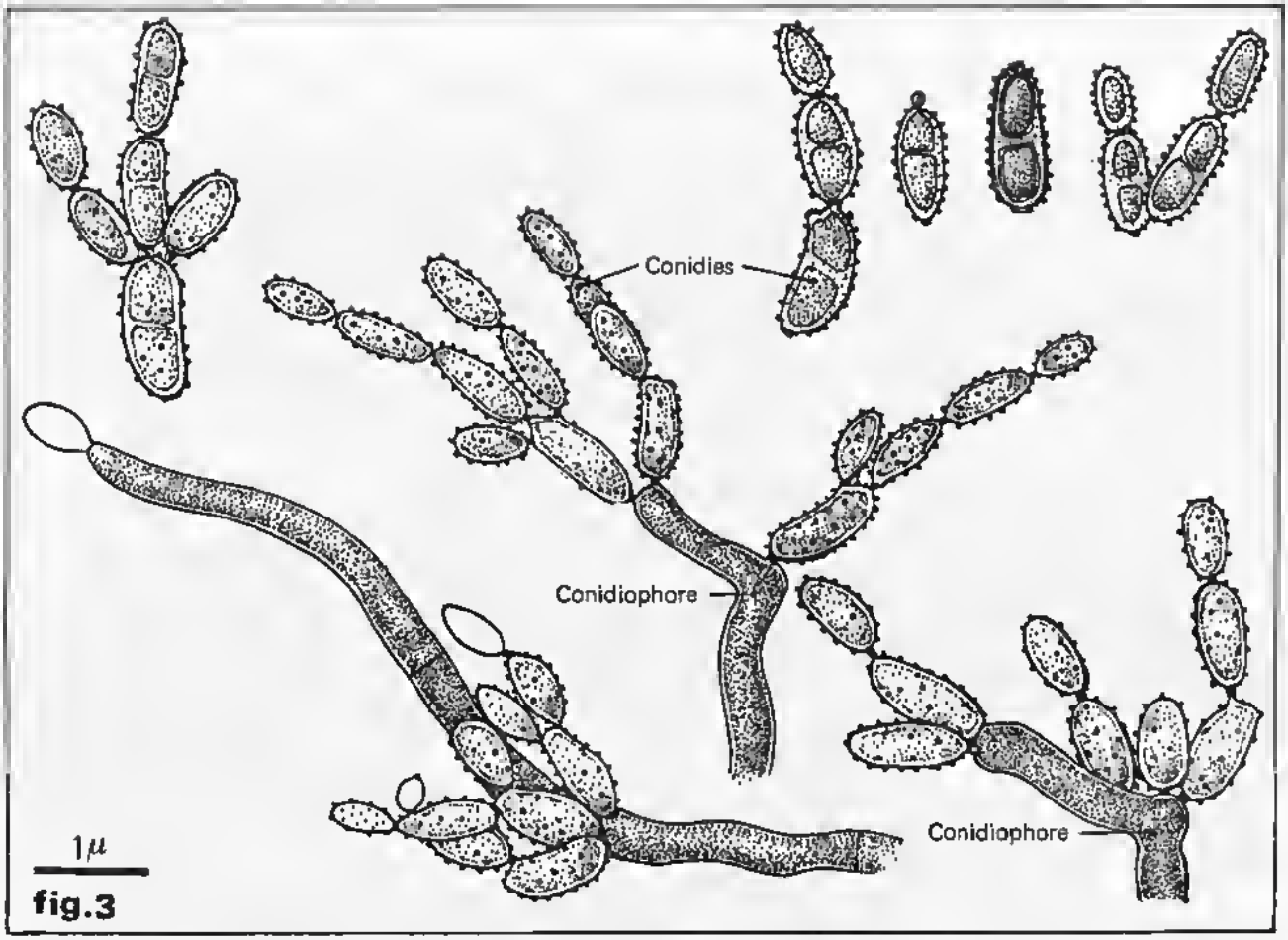
Fig. 2. — *Aspergillus tamarii* Kita.

A : Tête conidienne unisériée.

B : Tête conidienne bisériée où les phialides sont portées par un segment intercalaire : la métule. Les conidies sont disposées en chaînes durables.



Source : MNHN, Paris



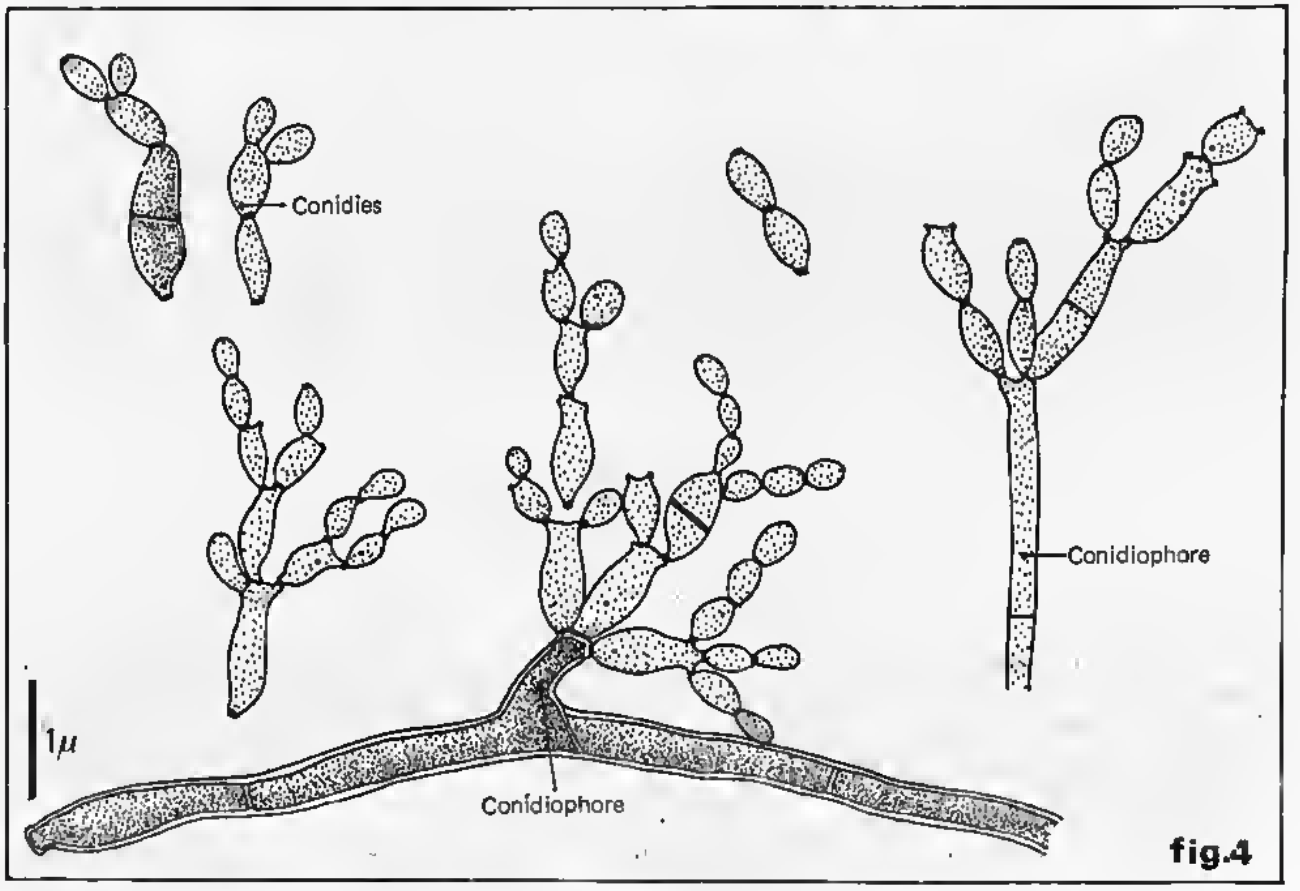


Fig. 3. — *Cladosporium herbarum* (Pers.) ex S. F. Gray. Les conidies prennent naissance à partir d'un filament conidiophore à croissance continue. D'après M. B. Ellis (1971).

Fig. 4. — *Cladosporium cladosporioides* (Fresn.) de Vries.
Le conidiophore a, dans ce cas, une croissance définie. D'après M. B. Ellis (1971).

Source : MNHN, Paris

ments conidiophores, groupés à la surface d'un stroma pseudoparenchymateux, portant à leur sommet des arbuscules plus ou moins denses de conidies réfringentes. Celles-ci sont groupées en chaînes ramifiées et fragiles ; elles ont une forme allongée (de 15 × 5 µm en moyenne), sont de couleur brun clair et ornementées sur toute leur surface ; elles présentent des cicatrices proéminentes à deux extrémités. La plupart sont unicellulaires mais certaines sont cloisonnées en deux ou, plus rarement, trois cellules. Les conidiophores qui les portent peuvent atteindre 250 µm de haut. Ils sont brun sombre légèrement rugueux et présentent des zones élargies, géniculées, porteuses de cicatrices conidiennes étagées, disposées à chaque coude latéral du filament. Ces zones fertiles, morphologiquement distinctes, peuvent être terminales ou intercalaires, séparées alors par des zones de croissance rectiligne.

CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES (Fresen.) de Vries. (Fig. 4)

La deuxième espèce de *Claposdorium* que nous avons examinée se développait sur des tiges de *Typha*, récoltées en Loire-Atlantique. Elle y forme des plages régulières, diffuses, assez rares, d'un vert sombre. Les arbuscules conidiens sont plus serrés et plus courts que ceux de *C. herbarum*.

L'observation microscopique de notre souche révèle la présence de conidiophores ayant, pour la plupart, l'aspect de branches latérales (de 30 µm environ) portées par des hyphes dématiées plus larges. Ces ramifications fertiles se terminent soit par un léger renflement terminal porteur de quelques cicatrices conidiennes (4 à 5), soit par deux ou trois brèves digitations terminées chacune par une cicatrice.

Les spores sombres sont ellipsoïdes, parfois nettement apiculées aux extrémités, mesurant en moyenne 5 sur 2 µm, à paroi lisse. Très généralement unicellulaires, les ramo-conidies sont parfois divisées par une cloison médiane.

C. herbarum a été décrit comme l'anamorphe de deux Ascomycètes du genre *Mycosphaerella* : *M. tassiana* (V. Arx, 1949) et *M. tulasnei* (Kienholz, 1944). Cette communauté de forme conidienne conduit Von Arx (1950) à établir une synonymie entre les deux téléomorphes réunies sous le nom de *M. tassiana*.

C. cladosporioides n'a pas de phase téléomorphique connue.

Parallèlement à un mode de conidiogenèse blastique en direction acropète, les deux champignons de ce genre possèdent des conidiophores dont le fonctionnement apical, fini ou itératif selon l'espèce, entraîne une différence morphologique sensible. *C. herbarum* a été choisi en raison de ses conidiophores bien différenciés auxquels l'accroissement apical, lors de la conidiogenèse, confère un aspect géniculé, parfois noduleux, nettement discernable. Les traces d'insertions conidiennes relativement espacées soulignent un aspect sympodial aux géniculations étagées. Ceux de *C. cladosporioides*, par contre, ne montrent pas d'accroissement notable, la cellule conidiogène intégrée porte à son sommet un petit nombre de cicatrices (pas plus de 5) étroitement groupées ou portées par de courts diverticules (pl. 20).

II. — TECHNIQUES

A. — Microscopie électronique à transmission

La reconstitution des séquences de la conidiogenèse par l'observation de phases ponctuelles successives rencontre deux difficultés principales : le prélèvement d'une phase de développement précise dans une culture où elles sont juxtaposées et indistinctes à l'œil nu, et le maintien de la cohésion des éléments conidiens et conidiogènes entre eux, au cours des transferts successifs dans les différents fixateurs.

Nous avons tenté de tourner ces difficultés de plusieurs façons.

Prélèvement du matériel : La situation du mycélium végétatif au sein du milieu de culture modi-

Source : MNHN, Paris

fie sa structure pariétale ; en conséquence, pour l'étude des mécanismes conidiogènes, nous avons systématiquement évité de prélever du matériel développé dans le substrat nutritif artificiel. L'organisation même des fructifications nous a parfois aidée dans cette tâche En effet, les corémies de *Stilbothamnium nudipes* dressées au-dessus du milieu, ont pu être prélevées *in toto* et transférées dans le fixateur. La disposition chronologiquement étagée des têtes conidiennes autorise, par la suite, le choix et le prélèvement de tel ou tel stade déterminé. Pour les *Cladosporium*, nous avons travaillé sur du matériel frais. De petits morceaux d'épiderme foliaire (environ 3 mm²) porteur de champignon ont été découpés sous la loupe et fixés immédiatement. Pour fixer les têtes d'*Aspergillus tamarii*, nous avons eu recours à la technique de la culture sur un film de cellophane appliqué à la surface du milieu (Carroll, 1972).

Après le développement suffisant du thalle, des petits carrés sont découpés dans les parties jeunes ou âgées, selon le stade conidien désiré, décollés du substrat nutritif et transférés dans le fixateur.

Fixation : les échantillons sont fixés au mélange paraformaldéhyde + glutaraldéhyde (Karnovsky, 1971) à 6 %, dans un tampon caccodylate à pH 7,4. Ils sont ensuite maintenus sous un vide partiel pendant une quinzaine de minutes et laissés durant 2 à 3 heures dans ce premier bain. Après rinçage dans le tampon, nous avons post-fixé au tétroxyde d'osmium à 1 % pendant 12 heures environ. Après lavage à l'eau distillée, les échantillons sont enfin plongés dans une solution d'acétate d'uranyle à 0,5 % dans l'alcool éthylique.

Toutes les fixations ont été effectuées à la température du laboratoire.

A titre d'essai, lors des premières expériences, nous avons utilisé le permanganate de potassium (Luft, 1956). La concentration n'a jamais dépassé 2 % et ce fixateur a été employé, tamponné ou non, pendant 60 minutes. La qualité médiocre des résultats nous a fait préférer, par la suite, la fixation à l'aldéhyde formique.

Après déshydratation dans des bains d'alcool de concentrations croissantes, nous avons procédé à l'imprégnation dans l'épon.

Inclusion : si la taille relativement importante des fragments de matériel a permis un transfert aisé dans les bains successifs, l'inclusion définitive nécessite parfois une dissection de ces fragments qui permette de sélectionner tel ou tel stade intéressant, en bon état de conservation. La faible dimension des structures conidifères nécessite une observation au microscope photonique. Afin d'éviter l'utilisation, parfois délicate et toujours très longue du micromanipulateur, nous avons choisi la technique suivante : des gouttes de résine fraîche sont disposées en ligne à la surface d'une lame propre. Les éléments sporogènes sont prélevés sous la loupe à l'aide d'une aiguille de verre et transférés sur la lame, dans la résine. Puis l'observation au microscope optique permet de juger, avec plus de sûreté, de l'état d'évolution et de conservation des structures et de repérer les gouttes contenant le matériel convenable. Celles-ci sont alors déposées au sommet d'un bloc préalablement surfacé, et recouvertes d'une petite quantité de résine.

Le matériel ainsi inclus est mis à polymériser 1 heure à 37°C., 12 heures à 48°C., puis 48 heures à 70°C.

Les conidiophores de *Cladosporium* ont été inclus directement en prenant bien soin d'orienter convenablement le matériel en prévision du plan de coupe.

Coupes : les coupes ont été réalisées au microtome Porter-Blum M.T.2 (Sorvall) et recueillies sur des grilles de cuivre collodionnées et carbonnées.

Contrastants : avant l'observation nous avons régulièrement effectué une double coloration acétate d'uranyle-citrate de plomb.

L'acétate d'uranyle a été utilisé à une concentration de 2 % en solution à 50 % dans l'alcool éthylique. Le temps de coloration est de 5 à 10 minutes. Le citrate de plomb, obtenu selon la méthode de Reynolds (1963), agit rapidement, en 5 minutes maximum.

Mise en évidence des polysaccharides : pour révéler les polysaccharides nous avons utilisé le test P.A.T.Ag. (acide périodique, thiocarbohydrazide, protéinate d'argent) selon la technique de Thiery (1967).

Les coupes fines ont été examinées dans un appareil Hitachi H.U. 11 A.

Source : MNHN, Paris

B. — Microscopie électronique à balayage

Le matériel a été prélevé et fixé comme pour la microscopie à transmission. La déshydratation a été suivie d'un bain dans l'acétone pure destiné à faciliter la substitution par le CO_2 liquide. En effet, afin de limiter les artefacts dus à la déshydratation, nous avons, pour tous les examens en balayage, utilisé la technique du point critique (Cole, 1975b). Le matériel ainsi traité est ensuite métallisé par vaporisation d'or (sur une épaisseur d'environ 100 Å) et observé dans un microscope cambridge 600.

C. — Cultures en chambre gélosée

L'observation séquentielle de la conidiogenèse en microscopie optique a été réalisée selon la technique proposée par Cole et Kendrick (1968). Nous en rappellerons ici brièvement le principe.

Dans une boîte de Pétri contenant du milieu gélosé sur une faible épaisseur, on découpe puis on prélève un carré de 1 cm de côté prolongé latéralement par 2 petits couloirs opposés. La face inférieure de la boîte est ainsi mise à nu, l'évidement effectué permettant le passage direct de la lumière. Le champignon est ensemencé sur les bords de l'ouverture, immédiatement recouverte d'une lamelle stérile. L'ensemble est ensuite déposé sur la platine du microscope et l'on peut ainsi suivre le développement du champignon, vers l'intérieur de la chambre. Des photographies sont alors prises à intervalles de temps réguliers.

L'aération indispensable à un développement normal est assurée par les canaux latéraux qui s'étendent au-delà de la lamelle. Pour remédier à la déshydratation consécutive au léger échauffement dû à la lumière, on peut, par ces même canaux, déposer régulièrement quelques gouttes d'eau stérile.

III. — EXPLICATION DES PLANCHES

Dans les légendes des planches, les observations réalisées au microscope électronique à transmission seront indiquées par la mention M.E.T., M.E.B. pour le microscope électronique à balayage et M.P. pour le microscope photonique.

Les contrastants généralement utilisés sont l'acétate d'uranyle suivi de citrate de plomb. Nous ne le rappellerons donc pas pour chaque document. Les techniques spéciales seront, par contre, précisées au fur et à mesure de leur emploi.

Source : MNHN, Paris

PREMIÈRE PARTIE

LA PAROI DU MYCÉLIUM VÉGÉTATIF

La paroi des Eumycètes est une structure rigide qui sépare la cellule fongique du milieu extérieur et aide au maintien de la morphologie en équilibrant la pression à l'intérieur de la cellule. Sa destruction expérimentalement provoquée entraîne la libération d'un protoplaste qui a toujours une forme sphérique très différente de l'élément dont il est issu (Villanueva, 1966).

Les Hyphomycètes, champignons réduits à leur phase végétative, ont une organisation rudimentaire essentiellement composée de filaments en contact avec le substrat nutritif.

Les échanges avec le milieu extérieur ne peuvent se faire qu'à travers les parois, ce qui implique une certaine perméabilité de ces dernières.

Une hyphe mycélienne est une sorte de tube creux contenant du cytoplasme et ses organites. Chez les Phycomycètes, dépourvus de cloisons, on ne distingue pas de cellules ; chez les Septomycètes, le cytoplasme est fragmenté mais la présence de perforations au niveau des cloisons autorise la continuité cytoplasmique d'une cellule à l'autre.

Au cours de la croissance du champignon, le cytoplasme des parties âgées se lyse, les hyphes se vident de leur contenu mais les parois demeurent. Ces dernières représentent l'élément persistant continu, au niveau duquel se traduisent toutes les modifications morphologiques du champignon.

Depuis longtemps, d'ailleurs, l'étude systématique des Hyphomycètes en microscopie optique repose sur l'observation des parois dont l'évolution exprime les étapes de la morphogenèse : formation des cellules conidiogènes et des conidies, ornementation et forme des spores, etc. Chez les Levures, un protoplaste ne récupère sa faculté de bourgeonnement que lorsque la paroi est reconstituée. Celle-ci semble donc, outre sa fonction protectrice, être indispensable à l'accomplissement des mécanismes de propagation.

Ainsi, sur le plan morphogénétique, la paroi fongique ne représente pas seulement la traduction visible des phénomènes cytoplasmiques intracellulaires mais elle participe à leur déroulement.

1. — NOTIONS FONDAMENTALES

1) *Composition de la paroi.*

L'intérêt de la connaissance approfondie de cette enveloppe externe de la cellule fongique n'a pas échappé aux chercheurs.

Les techniques nouvelles d'isolement des parois (Aronson et Machlis, 1959, Novaes-Ledieu et al., 1967, Mahadevan et Tatum, 1967) de diffraction des rayons X, de spectroscopie en infra-rouge et de fluorescence ouvrirent la voie à l'analyse précise des constituants chimiques pariétaux.

Source : MNHN, Paris

Aronson (1965) puis Rosenberger (1976) ont établi un bilan des différents polymères et de leur constituants les plus fréquemment rencontrés dans la paroi des champignons (Tableau 1).

Tableau 1. — Principaux polymères constituant les parois fongiques.

D'après R. F. Rosenberger (1976).

R-glucanes : à chaînes ramifiées (rough) ; S-glucanes : à chaînes linéaires (smooth).

Polymères	Monomères constituants	Type de liaison	Distribution
R-glucanes	Glucose	β (1-3) + β (1-6)	La plupart des groupes sauf les Mucorales.
S-glucanes	Glucose	α (1-3)	Asco- et Basidiomycètes.
Cellulose	Glucose	β (1-4)	Phycomycètes
Chitine	N-acétyl-glucosamine	β (1-4)	La plupart des groupes sauf les Phycomycètes et les Mucorales.
Chitosanes	Glucosamine	β (1-4)	Mucorales
Aminopolysaccharides	Galactosamine	inconnu	Ascomycètes, Hyphomycètes.
Polyuronides	Acide glucuronique	inconnu	Mucorales.
Hétéropolymères	Mannose, galactose fucose, xylose, glucose, acide glucuronique.	inconnu	Zygomycètes, Ascomycètes, Basidiomycètes.
Protéines	Acides aminés communs (parfois hydroxyproline)		Tous les groupes. Hydroxyproline chez les Phycomycètes.

La spécificité de certains composants, chitine et cellulose en particulier, a incité quelques auteurs (Bartnicki-Garcia, 1968 (b), Jones et al., 1972) à utiliser ce caractère à des fins systématiques. Cependant, la composition de la paroi, capable de se modifier en réponse à des changements de milieu, n'est pas une constante absolue ; dans une certaine mesure, elle dépend de l'état physiologique du champignon (Bartnicki-Garcia, 1968a).

2) *Édification de la paroi.*

L'hyphe mycélienne s'accroît par l'apex. A ce niveau, se situe un lieu actif de synthèses pariétales (Bartnicki-Garcia et Lipman, 1969, Katz et Rosenberger, (b) 1971).

Dans le cytoplasme apical, en effet, Grove et Bracker en 1970 ont rapporté la présence de « microvésicules » groupées en grand nombre à l'apex et pouvant jouer un rôle prépondérant dans le transport de matériaux et enzymes nécessaires à l'édification de la paroi.

Ainsi, l'organisation cytoplasmique typique d'un apex de filament en croissance se définit de la façon suivante :

— une zone apicale caractérisée par la présence de microvésicules nombreuses ;

— une zone sub-apicale, riche en mitochondries, réticulum endoplasmique et noyaux en état de division ;

— une zone distale vacuolisée et contenant des noyaux au repos.

Source : MNHN, Paris

La paroi de l'apex reste plastique, recouvrant un sommet hypbal en forme de dôme et devient rigide, latéralement, lorsque le filament acquiert sa forme caractéristique en cylindre.

Le passage de l'état souple à l'état rigide peut se faire par addition de nouveau matériel inextensible ou par établissement de liaisons nouvelles entre polymères (Robertson, 1959 et Trinci et Collinge, 1975).

3) *Structure de la paroi.*

— *Données d'ordre chimique :* Les techniques de microdissection enzymatique ont permis d'analyser la structure des parois du point de vue chimique. Hunsley et Burnett, en 1970, ont proposé un schéma de l'organisation pariétale d'une hyphe d'Ascomycète : *Neurospora crassa* (figure 5) que les données nouvelles (Burnett et Trinci, 1979) ne modifient pas sensiblement. Elle est essentiellement composée de glucanes externes (β 1-3 et β 1-6) superposés à un réseau de fibrilles formées de glycoprotéines complexes dont les interstices sont remplis d'une substance protéique de densité croissante vers la strate la plus interne, elle-même constituée d'un réseau chitineux au contact du plasmalemme. Cette structure est acquise peu à peu au fur et à mesure que l'on s'éloigne de l'apex (figure 6).

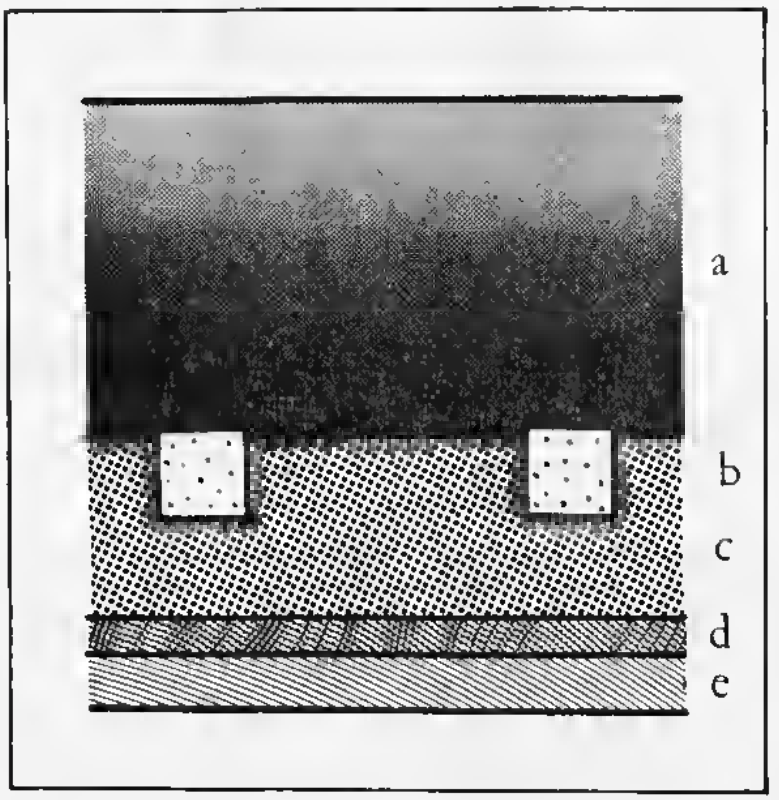


Fig. 5. — Schéma de l'organisation pariétale d'une hyphe de *Neurospora crassa* d'après D. Hunsley et J. H. Burnett (1970).

a : glucanes amorphes à liaison β 1-3 et β 1-6 ; **b** : coupes transversales dans les fibres du réseau glycoprotéique ; **c** : protéines ; **d** : couche particulièrement riche en protéines. **e** : couche chitineuse (peut-être mêlée de protéines).

Source : MNHN, Paris

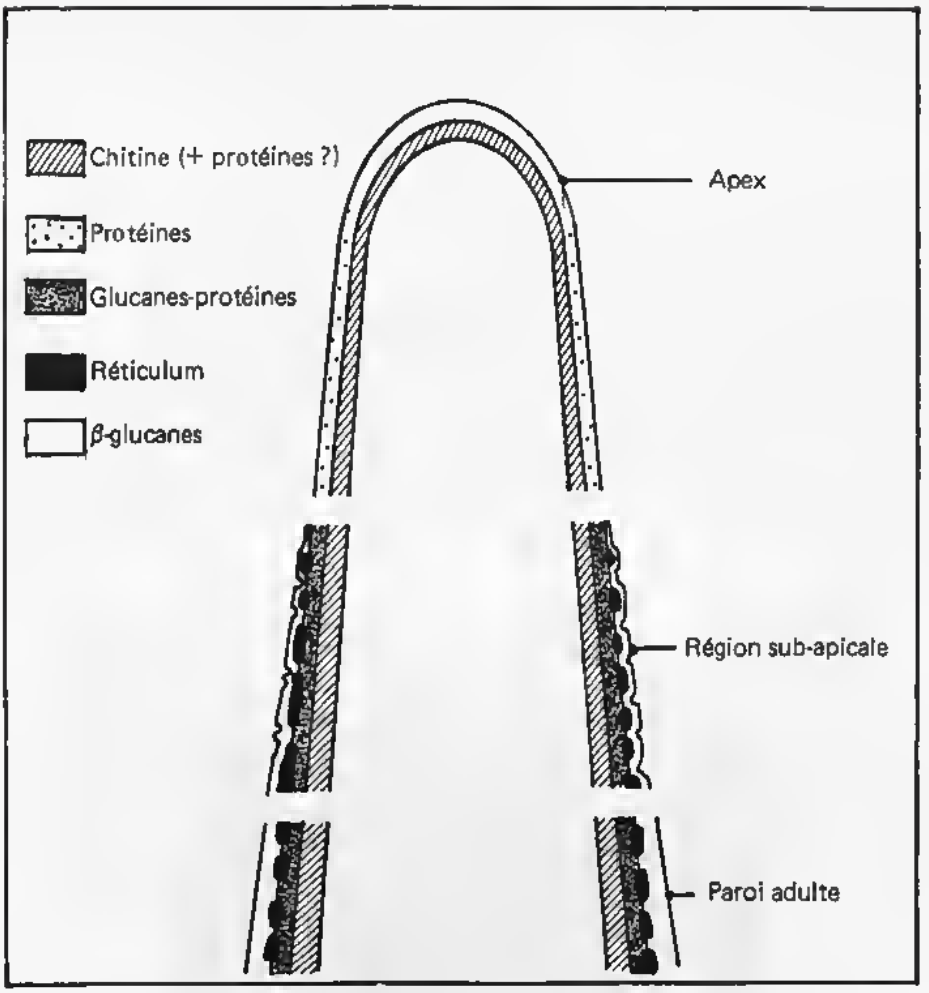


Fig. 6. — Schéma illustrant la structure et la différenciation de la paroi au cours de l'allongement d'une hyphe de *Neurospora crassa*. D'après J. H. Burnett (1979).

— *Données d'ordre microscopique :* Il revient à Chadefeaud (1962) d'avoir donné, à la suite d'observations minutieuses, un schéma général de l'organisation des parois des filaments d'Ascomycètes. Selon l'auteur, elle est constituée d'une mince tunique externe, la *vagina* (de nature pectique) doublée d'une couche interne plus épaisse, la *locula* (calloso-chitineuse). En microscopie électronique, les techniques classiques révèlent la superposition de couches concentriques différant entre elles par leur opacité aux électrons. La difficulté de caractériser avec précision la nature des couches observées conduit Reisinger (1972), puis Mangenot et Reisinger (1976) à désigner chaque strate par une lettre, sans implication de constitution chimique. Nous opterons également pour cette dernière méthode. Le tableau 2 montre la correspondance entre les diverses interprétations structurales.

— *Mélanisation :* Un constituant particulier, de nature mélanique (indole-mélanine), se superpose, chez les champignons de couleur sombre, aux constituants fondamentaux de la paroi. Il peut se localiser à la surface sous forme de granulations externes, ou s'avancer profondément dans la paroi en nappes régulières (Reisinger, 1972, Ellis et Griffiths, 1974 et 1975c).

Source : MNHN, Paris

II. — OBSERVATION DE LA STRUCTURE PARIÉTALE

A la suite des auteurs cités dans le précédent chapitre, nous nous sommes appliquée à préciser la disposition fondamentale et la dynamique des constituants pariétaux du thalle végétatif, aux stades successifs de sa différenciation.

A. — Mycélium hyalin

Chez *Stilbothamnium nudipes* et *Aspergillus tamarii* où nous l'avons observée, la paroi de l'hyphe à l'état jeune est peu épaisse et difficile à contraster par les colorants habituels, tant en microscopie optique qu'électronique.

Elle présente une couche claire, de faible épaisseur, de texture d'abord homogène, limitée vers l'extérieur par un liseré sombre dense, souvent granuleux, d'autant plus marqué que l'on s'éloigne de l'apex. Elle s'épaissit alors sensiblement et acquiert une structure hétérogène dans le mycélium plus âgé où elle peut atteindre 1,5 µm, (Pl. 1, fig. 1 et 2).

A ce stade on y distingue, en microscopie électronique, une structure hétérogène composée d'une couche interne, de texture fibrillaire à disposition longitudinale, dont chaque fibrille est constituée de microgranules juxtaposés, la couche C (Pl. 1, fig. 3). Parfois, l'orientation de ces fibrilles denses aux électrons peut changer, les plus externes restant rectilignes tandis que les plus internes montrent des ondulations qui suivent d'assez près le plasmalemme. Ainsi peuvent se définir deux sous-unités au sein de la couche C (Pl. 1). Les coupes transversales et longitudinales des hyphes montrent la même structure.

Vers l'extérieur, la couche lamellaire est limitée par une mince couche sombre (B) homogène, puis par une couche externe A.

Dans une paroi de mycélium aérien d'*Aspergillus tamarii*, nous avons pu mettre les polysaccharides en évidence, en les colorant sélectivement par la méthode de Thiéry.

D'une façon générale, les couches externes A et B réagissent positivement au test.

Par contre, à l'intérieur de la coubc lamellaire C, la répartition des polysaccharides est hétérogène. (Pl 2, fig. 1, 2, 3, 4). On relève ainsi cinq strates bien différenciées superposées les unes aux autres. La première, immédiatement située sous les fines enveloppes externes, s'étend sur environ la moitié de l'épaisseur totale. Elle reste transparente aux électrons, ne réagissant pas au protéinate d'Argent. Elle est parfois traversée par un fin liseré opaque qui la subdivise en deux. Cette réaction négative peut traduire l'absence de polyosides réactifs ne contenant pas dans leur molécule de groupements glycol libres : α 1-2 mananes, α 1-6 mananes, β 1-6 glucanes, ou leur masquage par d'autres composés. Par contre, le protéinate d'Argent révèle une très nette réaction dans la strate suivante (2) qui a un aspect homogène, parfois lamellaire sur les coupes transversales, traduisant la richesse de cette zone en polysaccharides à liaison α 1-3, α 1-6 et β 1-3. Elle est bordée, vers l'intérieur par une strate très fine (3), très fortement réagissante au test. A cette dernière succède une couche claire (4) d'épaisseur régulière puis, à nouveau une ultime strate polysaccharidique, plus diffuse au contact du plasmalemme. Cette zone hétérogène, parfois absente, n'a peut-être pas d'individualité propre et pourrait fournir le matériel intégré ensuite dans les couches voisines.

La même alternance se retrouve sur les coupes longitudinales et transversales, montrant ainsi la régularité de la répartition de ces composants, en strates concentriques. (Pl. 2, fig. 1 et 4). Ces strates Thiéry positives n'ont pu être clairement mises en évidence dans les parois du mycélium jeune. Nous interprétons cette réaction négative comme le reflet d'une différenciation à peine ébauchée, où les constituants fondamentaux de la paroi n'ont pas acquis leur position définitive.

En résumé, la paroi fondamentale des hyphes adultes aériennes d'*Aspergillus tamarii* semble composée d'un réseau de fibrilles essentiellement protéiques dans les mailles duquel se logent des

Source : MNHN, Paris

couches de nature chimique différentes avec localisation globale préférentielle de composants polysaccharidiques (à groupements α-glycol libres) vers l'intérieur. La chitine, non réactive, pourrait être localisée dans la zone transparente aux électrons (4) que nous avons décrite.

Cependant, les observations que nous avons réalisées et les techniques utilisées ne nous permettent pas, pour l'instant, de préciser la nature biochimique exacte des diverses couches. Dans l'optique de nos recherches, nous retiendrons seulement l'hétérogénéité dans la superposition des composants, hétérogénéité à laquelle peut correspondre, comme nous le verrons plus loin, une certaine indépendance des strates les unes par rapport aux autres.

B. — Mycélium dématié

Chez les champignons dématiés, la paroi hyphale est colorée par des pigments brun sombre, vraisemblablement de nature mélanique.

Nous avons étudié la structure de ce type de paroi chez *Cladosporium herbarum*.

Comme chez les hyphes hyalines, elle apparaît constituée d'une pellicule externe irrégulière A, plus ou moins décollée de la couche sous-jacente homogène B, toutes deux appliquées à une épaisse couche profonde lamellaire C. (Pl. 3, fig. 1, 2). A et B sont incontestablement dématiées. La coloration acétate d'uranyle — citrate de plomb souligne la texture fibrillaire de la couche C, analogue à celle que nous avons rencontrée dans les hyphes hyalines.

On observe parfois de gros amas épars qui s'enfoncent dans l'épaisseur de la paroi jusqu'au voisinage du plasmalemme. (Pl 2, fig. 5). Dans le mycélium âgé, la mélanisation peut progresser très profondément et uniformément, jusqu'à n'être plus séparée du cytoplasme que par une mince couche pariétale claire, contiguë au plasmalemme. Malgré cet obscurcissement, la structure fibrillaire de cette couche pariétale reste visible, surtout dans la partie inférieure. Le dépôt de granules mélaniques qui paraît s'effectuer sur les fibrilles constitutives, en souligne la disposition fondamentale (Pl. 22).

La paroi des hyphes de *Cladosporium herbarum* ne réagit pas sensiblement au test des polysaccharides ; seules les fibrilles sont plus nettement contrastées. On peut considérer que la présence de grains de mélanine ou de ses précurseurs modifie quelque peu la réaction au protéinate d'Argent des composés glucidiques, si bien que les résultats ne peuvent être interprétés en termes strictement biochimiques.

Les composants structuraux des parois hyphales de *Cladosporium herbarum* correspondent, globalement, au schéma donné par Ellis et Griffiths (1974) pour *Amorphotheca resinae* et *Humicola grisea*. On observe la même mélanisation externe très dense, superposée à une couche interne hyaline plus ou moins épaisse.

Cependant, nous avons pu ici mettre en évidence la constitution fibrillaire de la couche profonde et, dans certains cas, la répartition des grains de mélanine le long de ces fibrilles.

Nous verrons plus loin l'intérêt de l'observation de cette structure dans les mécanismes d'accroissement sympodial du conidiophore de *Cladosporium*.

Discussion

L'examen de l'ensemble des documents nous permet de proposer un schéma général de structure de la paroi hyphale, autour duquel peuvent s'intégrer les modifications secondaires dues au caractère pigmenté ou non des parois, ou à leurs conditions de développement.

Sur ce dernier point, en effet, nous avons pu mettre en évidence la faculté que possède la couche la plus externe de la paroi de se dissocier, voire même de disparaître en milieu liquide (Roquebert, 1981). La labilité de cette couche et sa sensibilité au milieu externe peut, dans certains cas, faire douter de son identité. Nous la considérons plutôt comme une zone de contact entre l'hyphe et l'extérieur. Cependant, parce qu'elle participe à la dynamique des mouvements pariétaux et reste, dans la plupart des cas, observable au microscope, nous la considérons comme partie intégrante des strates pariétales de l'hyphe et, pour plus de commodité dans la description, nous lui affecterons la lettre A.

Source : MNHN, Paris

Par son aspect comme par sa réaction en milieu aqueux, cette couche correspond à celle que rapporte sous la même appellation, Reisinger, dans son schéma fondamental (1972) (cf. tableau 2).

Immédiatement au contact de la couche A, nous rencontrons une couche B parfois difficile à déceler, qui constitue vraisemblablement un stade avancé de différenciation de la couche sous-jacente C. Sans doute pour cette raison, elle ne figure pas dans l'énumération des strates pariétales proposée par les autres chercheurs. Sa stabilité en milieu liquide et sa dynamique différente de la strate interne contiguë (cf. chapitre suivant) nous portent, cependant, à lui reconnaître une existence propre.

Tableau II. — Comparaison des interprétations et des données concernant la structure des parois hyphales de champignons.

Chafedaud 1962	Reisinger 1972	Roquebert 1980	Hunsley & Burnett 1970
Vagina	A	A + B	glucanes
Locula	B → B2 *mélanisée* ↘ B1 *non mélanisée*	C → C1 ↘ C2	glucanes + protéines chitine + protéines

La couche profonde C s'étend sur environ les trois quarts de l'épaisseur totale. Nous avons mis en évidence l'existence de composants fibrillaires auxquels se combinent des couches concentriques amorphes, environ au nombre de 5, de natures chimiques diverses, dont 3 sont riches en polysaccharides. Souvent, cette couche profonde C est divisée en deux sous-couches qui diffèrent, en particulier, par l'alignement des fibrilles constitutives. A la face interne, en effet, elles sont plus lâches et ondulées suivant, de loin, les indentations du plasmalemme, tandis que vers B, elles forment une texture plus serrée, régulière, donnant une apparence de plus grande rigidité. L'ensemble correspond à la couche B de Reisinger qui, chez les champignons mélanisés, y reconnaît deux sous-unités : B2 pigmentée, externe, et B1 apigmentée.

Par ailleurs, la strate (4) interne de notre couche C, non réactive au test de Thiéry (chitineuse) pourrait être l'équivalent de la *locula* de Chadefaud (1962) et Schrantz (1970), le reste des composants externes constituant la *vagina* (tableau 2).

Nous avons, d'autre part, constaté l'aptitude de cette structure fondamentale à subir des modifications selon l'âge, les conditions de culture et la nature dématiée ou non du mycélium. Nous sommes ainsi amenée à considérer la paroi hyphale comme susceptible d'évoluer dans la structure de ses composants. Il devient alors nécessaire d'en étudier les formes successives, de l'état jeune à l'état adulte et sous des conditions de culture variées. La description ponctuelle d'un stade précis ne peut donner qu'une vision partielle, donc erronée, de structures qui doivent être considérées comme faisant partie d'un ensemble dynamique. La corrélation des résultats de nature biochimique et structurale reste, pour cette raison, encore hasardeuse et devra être étayée par des études synchronisées dans les deux domaines.

III. — MODIFICATIONS MORPHOGÈNES DE LA PAROI DES HYPHES

A. — Ramifications

1) *Données bibliographiques.*

Si l'accroissement en longueur d'une hyphe se fait de façon uniquement apicale, l'extension d'un thalle fongique, c'est-à-dire l'envahissement du substrat par le mycélium, résulte aussi d'un dévelop-

Source : MNHN, Paris

pement « latéral » par formation de multiples ramifications colonisatrices. A des distances variables de l'apex principal prennent naissance des expansions latérales, origine des filaments d'un complexe hyphal plus ou moins organisé. On peut distinguer deux types principaux de ramifications selon leur lieu d'initiation, soit au voisinage immédiat d'une cloison, soit en un point apparemment quelconque de la zone sub-apicale de l'hyphe.

Le premier type a été étudié chez divers Septomycètes (*Aspergillus nidulans*, *Geotrichum candidum*, *Neurospora crassa*) par Trinci (1970 et 1974), puis Fiddy et Trinci (1976). Comme dans le processus d'accroissement apical, l'afflux des vésicules cytoplasmiques serait initiateur de nouvelles synthèses latérales. Ces organites, répartis tout au long de la zone de croissance de l'hyphe, suivraient le courant cytoplasmique acropète. La formation des cloisons, en arrêtant le flux du cytoplasme, bloquerait leur déplacement. Elles se trouveraient alors retenues, groupées en arrière du septum et leur migration latérale vers la paroi constituerait la première étape de l'initiation raméale. Ce type de ramification apparaît donc dépendant du caractère septé du mycélium.

Chez les Siphomycètes, à mycélium non cloisonné, on observe un deuxième type où les rameaux prennent naissance de façon indépendante dans la zone subapicale de l'hyphe. Les observations de Dargent (1972) puis Fèvre (1976) sur *Achlya bisexualis* et *Saprolegnia monoica*, confirment le groupement de microvésicules aux points d'émergence des rameaux. Le même phénomène de migration cytoplasmique acropète est impliqué par Trinci (1974), puis Fèvre (*loc. cit.*) dans l'initiation raméale. Pour ces auteurs, l'excédent de vésicules non absorbées par l'apex en croissance se trouverait, sous l'effet de la pression de turgescence et du courant ctyoplasmique, plaqué contre la paroi latérale.

Bien que ces données restent encore relativement théoriques, l'état actuel des connaissances permet de concevoir une double dépendance : croissance apicale-septation et septation -ramification. Nous verrons par la suite l'importance de ces trois mécanismes dans la conidiogenèse et reviendrons sur l'intérêt de leur corrélation, soulignée par Collinge et al., en 1978a.

Un grand nombre de travaux ont porté sur le déterminisme de la ramification, mais peu de chercheurs ont observé *les phénomènes pariétaux* conduisant à sa formation.

Les rameaux prennent naissance en arrière de l'apex où la paroi hyphale a acquis une certaine rigidité ; l'initiation des branches latérales implique une rupture ou, tout au moins l'acquisition, par la paroi, d'une certaine plasticité aux points d'émergence. Dargent (1972) puis Collinge et al. (1978, a) ont décrit le même mécanisme chez les Sipho- et les Septomycètes. Ils observent la poussée d'une proéminence cytoplasmique perpendiculaire à l'axe principal et, à ce niveau, l'afflux de vésicules précédant une dissolution enzymatique ponctuelle de la paroi. L'ébauche latérale est enveloppée d'une paroi en continuité avec celle de l'hyphe principale. La ramification du tube germinatif de *Candida albicans* rapportée par Scherwitz et al. (1978) s'effectue selon le même processus.

2) *Observation de la genèse des rameaux latéraux.*

Nous avons étudié successivement deux organismes : un Hyphomycète non pigmenté : *Aspergillus tamarii* et une espèce dématiée : *Cladosporium herbarum*.

Les ramifications des hyphes d'*Aspergillus tamarii* se forment soit immédiatement en-dessous d'un septum soit, plus fréquemment, en un point apparemment quelconque du trajet de l'hyphe. Elles prennent naissance bien en arrière des régions apicales ou sous-apicales, donc dans une région où la paroi a acquis un degré de différenciation relativement avancé.

Le point d'initiation du filament latéral se distingue par la formation d'une légère protubérance à la surface de l'hyphe principale (Pl. 3, fig. 3). Les coupes à ce niveau montrent un étirement de la pellicule externe qui, dans certains cas, commence à se désagréger (Pl. 3, fig. 3). Dans l'épaisseur de la paroi, au contact du plasmalemme, s'individualise alors une strate interne, transparente aux électrons, coiffant l'ébauche du rameau (Pl. 3, fig. 1 et 2). Elle est en continuité avec la strate la plus interne de la couche profonde de l'hyphe principale. Difficilement observable aux premiers stades de sa formation, cette paroi endogène est beaucoup plus nette aux stade ultérieurs. Sous l'effet de la croissance accélérée du bourgeon latéral et de la poussée cytoplasmique, les couches externes (pellicule, couche B et partie externe de C) sont étirées puis rompues (Pl. 3, fig. 3), laissant le passage au

Source : MNHN, Paris

rameau qui continue de s'accroître. Celui-ci est alors coiffé de sa propre paroi, issue de la paroi de l'hyphe principale, dont les composants externes sont rapidement reconstitués (Pl. 3, fig. 4). Ce dernier phénomène masque donc très vite la nature endogène de la paroi du rameau nouvellement formé. On observe fréquemment une cloison à la base de la branche latérale ainsi individualisée (Pl. 3, fig. 4).

La pigmentation des parois de *Cladosporium herbarum*, en soulignant certaines strates pariétales, permet d'en suivre mieux le devenir. Les photos 1 et 2 (Pl. 3) montrent clairement que seule la couche fibrillaire profonde participe à la formation des ramifications de l'hyphe. La pellicule externe, plus ou moins désagrégée par sa situation au contact du milieu humide, disparaît complètement. La couche B est, soit complètement rompue, formant alors une sorte de bourrelet à la base du rameau, soit étirée au point de ne plus pouvoir être identifiable.

Dans le cas d'*Aspergillus tamarii* comme de *Cladosporium herbarum*, l'enveloppe pariétale primaire du bourgeon latéral tire son origine de la couche interne de la paroi profonde de l'hyphe génératrice. Son extrusion implique une plasticité ponctuelle des couches internes, acquise par l'action d'enzymes vraisemblablement contenues dans les vésicules cytoplasmiques. L'étirement de ces couches entraîne la rupture des strates pariétales externes rigides.

Les constituants externes (pellicule A et couche B) de l'enveloppe primaire du bourgeon latéral se reconstituent très rapidement.

La protection du cytoplasme du rameau secondaire est ainsi immédiatement assurée.

Cette extrême rapidité dans la différenciation secondaire peut prêter à confusion en suggérant une continuité absolue entre la paroi raméale et celle de l'hyphe principale. Seule l'observation des premiers stades de la différenciation du rameau permet d'en affirmer la nature et met en évidence la plasticité des strates internes de la paroi hyphale.

B. — Cloisonnement

1) *Données bibliographiques.*

Nous ne traiterons ici que des cloisons des champignons supérieurs, en excluant les « cloisons de retrait » qui ont une signification différente.

Le septum typique des Ascomycètes est une sorte de diaphragme percé d'un pore. Au voisinage de celui-ci se tiennent les corps de Woronine, organites sphériques, denses aux électrons, de nature protéique (Hoch et Maxwell, 1974), dont le rôle est d'obturer, le moment venu, l'orifice septal, séparant par là une cellule en voie de dégénérescence du reste de l'hyphe (Reichle et Alexander, 1965, Calonge, 1968). En leur absence, la fonction occlusive peut être assurée par d'autres types de dispositifs : cristaux hexagonaux (Trinci et Collinge, 1974) ou formations annulaires à l'intérieur ou au voisinage du pore (Hunsley et Goonay, 1974, Hammill, 1974, Terracina, 1974).

Les Basidiomycètes présentent des pores septaux ou *dolipores* dont la structure, différente de celles des Ascomycètes, a été étudiée par Moore et Mc Alear (1962). L'ensemble de cette formation est constitué par le renflement des lèvres de la plaque septale en une sorte de tonneau creux coiffé de deux calottes membranaires : les parenthésomes. Certaines modifications anatomiques du dolipore ont été décrites selon que les observations portaient sur du mycélium primaire ou secondaire ; Moore (1965) y voit une relation entre la structure plus ou moins hermétique du dolipore et la nécessité de maintenir un nombre fixe de noyaux (dicaryons) dans chaque élément de l'hyphe mycélienne.

Il apparaît ainsi que l'anatomie et la morphologie d'une cloison hyphale varient d'un groupe de champignons à l'autre. A l'intérieur même du groupe des Ascomycètes, on peut observer plusieurs types de perforations septales et de dispositifs d'occlusion. Quelle que soit la structure des septa perforés, le caractère coenocytique des hyphes mycéliennes est généralement préservé sur tout l'étendue du thalle vivant. La formation d'une cloison continue par la fermeture des orifices constitue un mode de limitation à la dégénérescence cytoplasmique par isolement des parties actives.

Si d'assez nombreux travaux ont porté sur la structure du septum hyphal chez divers types de champignons (Shatkin et Tatum, 1959, Schrantz, 1970, Pock-Steen et Kobayasi, 1970 et Lit-

Source : MNHN, Paris

TELFIELD et BRACKER, 1971), les informations concernant la nature des composants chimiques restent limitées. Sur ce point, nous retiendrons le schéma proposé par HUNSLEY et GOODAY (1974) portant sur *Neurospora crassa* (fig. 7). Des modifications secondaires peuvent être observées autour de ce schéma. La mélanisation, en particulier, peut modifier, à des degrés divers la nature des composants septaux (REISINGER, 1972).

Le matériel dont nous disposons nous a permis de préciser quelques aspects de la genèse et de la différenciation septales.

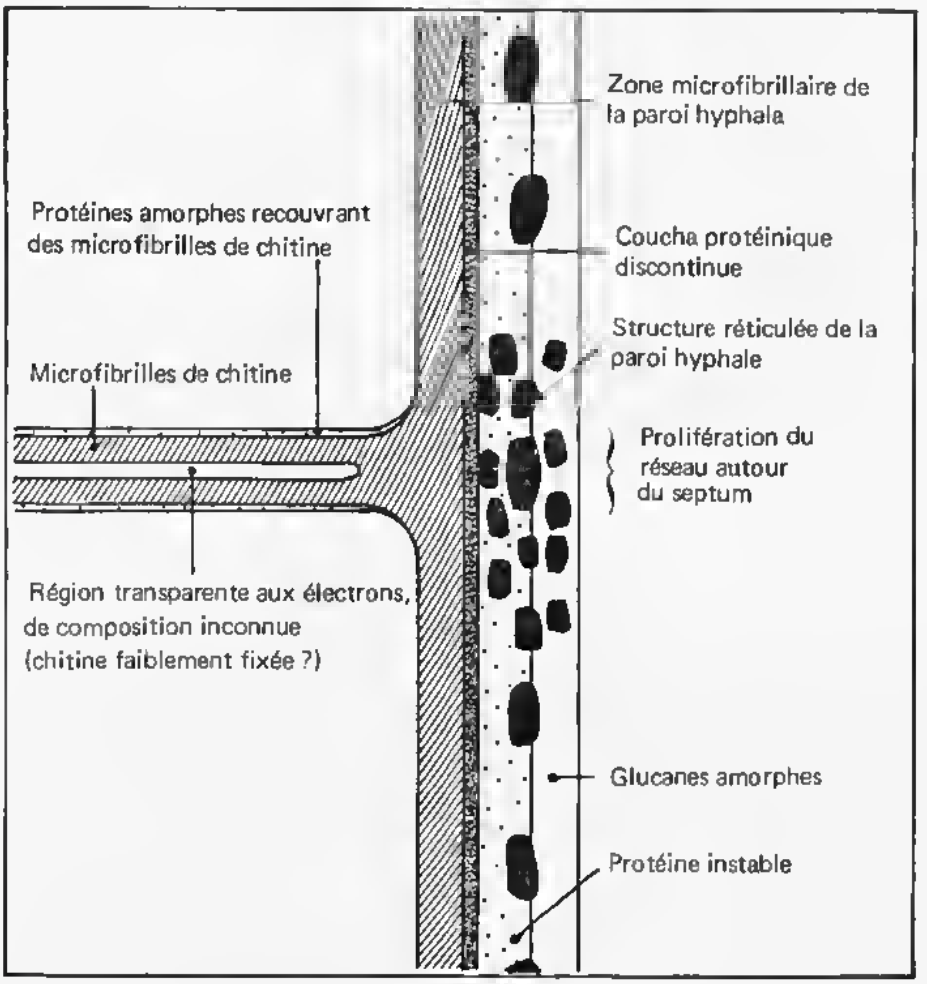


FIG. 7. — Schéma du modèle de structure septale chez *Neurospora crassa*. (HUNSLEY et GOODAY, 1974).

2) *Observation de la genèse des cloisons.*

— Cloisons hyalines :

Sur le trajet d'une hyphe végétative de *Aspergillus tamarii*, la formation d'une cloison débute par une avancée annulaire du plasmalemme vers l'intérieur du cytoplasme. On distingue sur les coupes deux protubérances internes opposées, remplies d'un matériel apparemment de même nature que la strate pariétale sur laquelle elle s'appuie. Leur progression centripète conduit à la formation d'une sorte de plaque transversale interrompue en son centre par un pore (Pl. 4, fig. 1 et 2). La similitude de nature entre le septum et la paroi interne persiste. Leur commune réaction négative au test des

Source : MNHN, Paris

polysaccharides confirme les résultats de Hunsley et Gooday (1974) qui suggèrent leur nature chitinoïde.

Dans certains cas cependant, on peut observer une différenciation secondaire, plus ou moins précoce. Elle se traduit par l'établissement d'un sillon médian limité par deux liserés symétriques opaques aux électrons, s'écartant vers l'extérieur au contact de la paroi latérale (Pl. 4, fig. 3). Les couches externes de celle-ci, A, B et partie de C, restent continues et homogènes, n'étant nullement impliquées dans le mécanisme de la septation (Pl. 4, fig. 1, 2 et 3). Au voisinage immédiat, voire même au contact du plasmalemme septal, on observe de nombreuses microvésicules. Solitaires ou groupées, elles sont parfois contenues dans une fossette de la membrane plasmique (lomasome) (Pl 4, fig. 2 et 3). Leur présence témoigne d'un apport de matériel septal et d'enzymes en provenance du cytoplasme, nécessaires à l'édification de la cloison.

Les septa hyphaux de *Stilbothamnium nudipes* sont, du point de vue ontogénique et structural, du même type que ceux de *Aspergillus tamarii*. Ils ont même origine et même composition que la couche interne de la paroi latérale sur laquelle ils s'appuient.

Nous avons schématisé les relations entre les parois latérales et septales sur la figure 8.

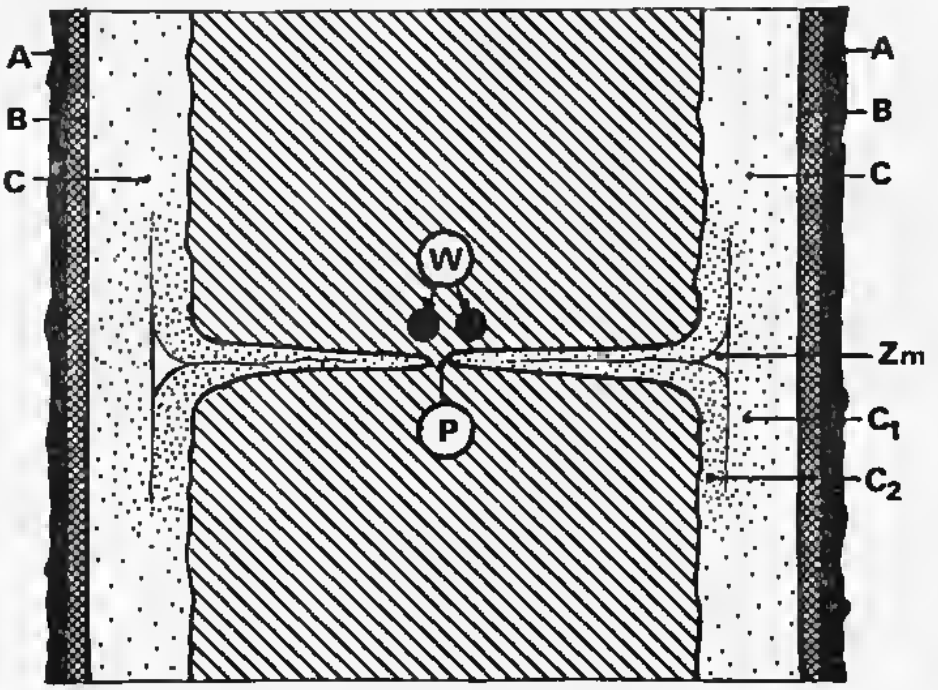


Fig. 8. — Structure d'une cloison dans le mycélium hyalin. Les couches externes A et B ne participent pas à cette formation. Au niveau du septum la couche C est scindée en une strate externe C1, continue et une strate interne C2 qui se prolonge dans le septum. Celui-ci est traversé par un liseré sombre (Zm). P : pore, W : corps de Woronine.

— Cloisons dématiées.

Dans le cas de *Cladosporium herbarum*, si l'ontogénie reste analogue, la mélanisation modifie quelque peu l'aspect de la structure fondamentale (Pl. 4, fig. 6).

La nature fibrillaire de la couche interne de C, qui constitue le septum, est ici soulignée par les granulations pigmentaires qu'elle supporte. La présence de cette pigmentation met ainsi en évidence la position respective des divers composants septaux. Au contact du plasmalemme de chaque cellule délimitée se trouve une strate légèrement fibrillaire hyaline à laquelle succède une couche centrale

Source : MNHN, Paris

également fibrillaire, dématiée. Toute deux se poursuivent et remontent dans la paroi latérale avec laquelle elles se confondent progressivement. Un sillon médian, hyalin et homogène, sépare ces constituants de leurs symétriques qui composent la partie inférieure de la cloison (Pl. 4, fig. 6). Au niveau du raccordement avec la paroi latérale continue, on observe nettement une zone triangulaire hyaline qui se trouve réduite au fur et à mesure que progresse la mélanisation septale. En effet, comme nous l'avons observé pour les parois latérales, la taille et le nombre des granulations dématiées augmentent dans la couche médiane, respectant toutefois le sillon transversal d'une part et, d'autre part, une strate hyaline appliquée au plasmalemme cellulaire. La pigmentation n'est donc pas limitée aux parois externes latérales, mais elle se produit également à l'intérieur de l'hyphe.

Il apparaît ainsi que *la couche interne de C, composant fondamental du septum, restant au contact du plasmalemme cellulaire, possède les mêmes aptitudes pour la différenciation pigmentaire que la couche latérale dont elle provient.* Le sillon médian apparaît alors comme la zone d'affrontement, de discontinuité entre deux unités symétriques capables d'évoluer de manière propre.

Dans le mycélium hyalin ou dématié, tous les pores septaux que nous avons pu observer sont uniques et médians. Les lèvres de la cloison s'amincissent à leur niveau et le plasmalemme qui les entoure est continu d'une cellule à l'autre. Les échanges cytoplasmiques sont ainsi assurés de cellule à cellule.

Au niveau du pore, nous avons rencontré deux types d'organites obturateurs.

Chez *Aspergillus tamarii* ce sont des corpuscules sphériques, légèrement plus larges que l'orifice septal, opaques aux électrons et entourés d'une membrane. Nous les identifions à des corps de Woronine typiques (Bracker, 1967 et Hammill, 1974) et les avons observés soit à proximité du pore, soit dans l'orifice même (Pl. 4, fig. 2 et 3).

Un deuxième type de bouchon septal existe chez *Stilbothamnium nudipes* (Pl. 4, fig. 1 et 4). Il s'agit de corps hexagonaux analogues à ceux que décrivent Trinci et Collinge (1974) dans le mycélium végétatif de *Neurospora crassa*. Certaines figures suggèrent que l'ontogénie de ces corps hexagonaux est comparable à celle que rapportent Cole et Samson (1979) pour les corps de Woronine de *Drechslera sorokiniana*. Comme ceux-ci en effet, ils peuvent se présenter sous forme d'inclusions opaques aux électrons, de forme irrégulière, contenues dans une enveloppe membranaire large emplie d'un matériel lâche. Ils se logent ensuite dans un diverticule latéral de cette enveloppe dont ils se détacheront par pincement (Pl. 4, fig. 1 et 4). La similitude de genèse de ces deux types d'organites (corps de Woronine et corps hexagonaux) tend à confirmer l'hypothèse de Hoch et Maxwell (1974) concernant leur identité de nature et de composition.

En résumé, l'observation suivie de l'ontogénie septale dans les hyphes mycéliennes de *Aspergillus tamarii*, *Stilbothamnium nudipes* et *Cladosporium herbarum* nous a permis de préciser les rapports entre les composants de la paroi latérale et ceux des cloisons.

Ces dernières, au début de leur développement, ne sont qu'une invagination de la couche C de la paroi latérale sur laquelle elles s'appuient, seule la strate interne de cette couche étant impliquée dans le septum. Ces résultats se retrouvent d'une façon générale dans les travaux des autres chercheurs et correspondent globalement aux schémas qu'ils ont proposés.

Par la suite, le septum est le siège d'une différenciation plus ou moins marquée selon la nature hyaline ou dématiée des parois. Elle se traduit par l'individualisation de deux strates symétriques appliquées au plasmalemme et séparées par un sillon médian. Comme Schrantz et Reisinger (*loc. cit.*), nous avons parfois observé une différenciation plus poussée et plus précoce autour des triangles latéraux de raccordement aux parois hyphales.

Dans le cas du mycélium dématié, la différenciation des deux lames septales peut s'accentuer encore par la mise en place de granulations pigmentaires. Celle-ci s'effectue selon un processus analogue à celui des parois latérales, respectant toujours une couche interne hyaline au contact du plasmalemme.

Le sillon médian et ses prolongements latéraux constitueraient ainsi une sorte de zone non activée, limite des aptitudes à la différenciation de chaque enveloppe cellulaire. Les nombreuses vésicules et indentations de la membrane plasmique observées au niveau du septum traduisent une grande

Source : MNHN, Paris

activité de synthèse. L'apport de matériel et la migration des facteurs de différenciation peuvent progresser selon deux plans parallèles jusqu'à s'affronter au niveau du sillon.

Les composants de la paroi latérale A, B et la partie externe de C ne participent pas à la formation des cloisons et restent inchangés et continus lors du cloisonnement.

Conclusion

L'observation ultrastructurale d'hyphes végétatives de *Aspergillus tamarii*, *Stilbothamnium nudipes* et *Cladosporium herbarum* permet de proposer un schéma général de structure pariétale commun.

Il comporte, dans l'ordre, une pellicule externe A, zone de contact entre l'hyphe et le milieu ambiant auquel elle est particulièrement sensible, une couche B, stable, de faible épaisseur, régulière et une couche profonde C, de structure lamellaire, parfois composée de deux sous-unités.

Cette structure n'est pas acquise d'emblée dans son intégralité mais s'édifie peu à peu en arrière de la zone apicale de l'hyphe.

Nous sommes ainsi amenée à considérer la paroi hyphale comme un élément dont la structure est capable d'évoluer selon l'état physiologique du champignon. Les couches externes sont les moins plastiques. Quant à la strate la plus interne de C, nous avons mis en évidence son aptitude à s'accroître de façon autonome. Ceci est vérifié lors de l'initiation des rameaux latéraux ou des cloisons. Enfin, cette strate endogène plastique possède la capacité de se différencier à son tour selon le même mode que la paroi dont elle faisait originellement partie. On en trouve l'exemple dans la reconstitution des couches externes B et A des rameaux latéraux et dans la pigmentation des cloisons des champignons dématiés. Nous interprétons cette aptitude à la progression et à la structuration de la couche interne de C, comme le maintien d'un état de différenciation faible et réversible à la face interne de la paroi. La persistance de cet état est vraisemblablement liée à la proximité du plasmalemme et des enzymes, et autres matériaux susceptibles d'y être véhiculés. La différenciation s'effectue alors selon un front progressif à partir du cytoplasme. Les strates externes perdent leur plasticité et ne peuvent plus participer aux mouvements naturels de la paroi. Elles ne peuvent qu'être rompues sous l'effet de pressions locales endogènes. Par contre, leur stabilité assure la continuité de l'hyphe malgré sa segmentation par les cloisons cellulaires.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

DEUXIÈME PARTIE

GENÈSE ET FONCTIONNEMENT DES PHIALIDES

I. — HYPHE CONIDIOGÈNE

A. — Définition. Rappel bibliographique

Au cours du développement naturel d'un champignon, après une période de croissance végétative plus ou moins longue, s'installe une phase reproductive.

Le terme général de reproduction recouvre deux processus fondamentalement différents, parfois successifs, bien que souvent observés simultanément en différents points du thalle : la reproduction sexuée caractérisée par la caryogamie et la méiose et la multiplication végétative. La plupart des champignons qui font l'objet de ce travail ne présentent pas de sexualité connue (*Fungi Imperfecti*) ; la multiplication végétative asexuée sera seule envisagée dans notre étude. Elle n'implique pas de phénomène préalable de plasmogamie mais correspond à l'individualisation, à partir d'un réseau mycélien plus ou moins étendu et ramifié, d'éléments de propagation facilement transportables par divers agents vecteurs. Les conditions physiologiques requises par le passage de l'état végétatif à l'état reproducteur ont été précisées dans de nombreux travaux (Hawker, 1957 et 1966 ; Burnett, 1968 ; Turian, 1969 et 1974 et Smith, 1977). Il ressort que les exigences de la croissance végétative et celles de la reproduction sont différentes. Une période minimum d'accroissement mycélien (végétatif) est indispensable à l'organisme pour acquérir la capacité de se reproduire. Durant cette période, il synthétise et accumule les métabolites nécessaires à la phase reproductive. Celle-ci est généralement induite quand un facteur externe ou interne devient limitant pour la croissance végétative. L'état sporulant est le résultat de l'action conjuguée de facteurs génétiques, métaboliques et écologiques (lumière, température, etc...) sur le mycélium.

Dans une structure reproductrice donnée, les états végétatif et sporogène sont souvent imbriqués. Il n'est pas rare, sur un même élément, d'observer une phase conidiogène suivie d'une repousse avant que ne reprenne la fonction conidiogène. Chez les Levures, même, les phases végétative et sporulante sont naturellement confondues.

Si, avec certains auteurs (Cabib et al., 1974 ; Katz et Rosenberger, 1971a), nous considérons la phase de multiplication comme le résultat de la rupture d'un équilibre enzymatique (dérépression des enzymes de lyse pariétale), nous concevons fort bien que le rétablissement de cet équilibre, à la suite d'une modification du métabolisme par exemple, ramène le champignon dans la phase végétative.

La trsduction morphologique de ce changement physiologique interne peut recouvrir des aspects trés différents.

A partir d'une hyphe, les conidies peuvent, en effet, se différencier selon plusieurs modes.

Les éléments sporogènes sont soit regroupés dans des organes de fructification spécialisés, pyc-

Source : MNHN, Paris

nides, sporodochies ou acervules (Coelomycètes), soit produits directement à la surface du thalle végétatif (Hyphomycètes).

Chez les Mucédinées (de teinte claire ou vive) et les Dématiées (plus ou moins mélanisées), les éléments conidiogènes sont dispersés à la surface du thalle. Ils sont, au contraire, agrégés en éléments dressés ou corémies chez les Stilbacées et groupés sur des coussinets stromatiques chez les Tuberculariacées. Pour les espèces à conidiophores épars, Saccardo (1886) propose une coupure basée sur le degré de différenciation de l'hyphe supportant les spores (*micronemae* et *macronemae*). A la même époque, en France, Costantin (1888) élaborait un système de classification des Mucédinées où la coupure fondamentale reposait sur la présence ou l'absence d'un « appareil spécial » sporogène, distinct des éléments filamenteux.

Fondée sur des observations morphologiques relativement aisées (morphologie des spores), la classification de Saccardo, la seule exhaustive, présente toutefois des difficultés d'application en raison de l'extrême plasticité des organismes auxquels elle s'applique. La nécessité de prendre en considération des caractères morphologiques plus stables en même temps que les progrès de la microscopie ouvrirent la voie à un autre type de recherche systématique.

Vuillemin en 1910 et 1911 posa les bases d'une classification qui tenait compte à la fois de la morphologie et des caractères morphogénétiques du champignon. Dans cette optique, et après une démarche tout à fait originale, il cherche à définir la spore de propagation par son ontogénie. Pour lui, le terme de *conidie* doit être réservé aux spores distinctes de l'appareil végétatif dès leur première ébauche tandis que celui de *thallospore* s'applique à celles qui, à l'origine, ne se distinguent pas de l'appareil végétatif, telles les arthrospores.

La *conidie* vraie qui caractérise le groupe des *conidiosporés* est, pour Vuillemin, « un élément de grande fixité ne le cédant en rien par la constance de ses caractères, aux spores des fructifications liées à la sexualité ». Elle est tantôt isolée sur le thalle (*Sporotrichés*), tantôt portée sur un appareil conidien plus ou moins différencié et préparant sa formation (*Sporophorés*).

Si l'existence et la complexité de cet « appareil intermédiaire » avaient déjà été constatées et prises en cause dans les classifications de Saccardo et de Costantin, la contribution majeure de Vuillemin fut d'attirer l'attention sur la partie du sporophore en relation immédiate avec la conidie et lui donnant naissance : *la cellule conidiogène*. Pour cet auteur, l'ultime partie du dispositif sporogène présente « une structure particulière qui l'oppose aux filaments végétatifs et aux branches précédentes du sporophore, plus complètement que celui-ci ne s'oppose au thalle ».

L'étape la plus avancée de cette différenciation est celle d'une cellule génératrice en forme de bouteille, isolée à la base par une cloison : *la phialide*. Cette particularité du sporophore justifie pour Vuillemin, la création d'un ordre « plus élevé », celui des *Phialidés*. Bien que méconnus en leur temps, les travaux de Vuillemin ouvrirent la voie à une conception de la systématique où la différenciation et le mode de fonctionnement de la cellule conidiogène allaient devenir prépondérants. Ces données nouvelles furent en effet reprises et discutées par Mason (1933 et 1937) puis par Hughes (1953), auquel on doit un système de classification où la forme des conidiophores, le mode de formation des spores et leur structure sont les critères fondamentaux de détermination.

Nous reviendrons plus loin sur les opinions et les différentes théories actuelles concernant la conidiogenèse et ses diverses modalités. Notre propos est, dans un premier temps, d'analyser la succession des stades qui différencient l'hyphe végétative en hyphe fertile.

On qualifie habituellement de *conidiophore* l'ensemble des structures qui portent les conidies. Un problème de terminologie a été cependant soulevé à ce propos, soit que l'on adopte cette définition au sens large, soit que l'on réserve le terme de conidiophore au stipe plus ou moins différencié dont on distingue la ou les cellules génératrices de spores. Cette discussion formelle reflète la diversité des opinions concernant la localisation morphologiquement observable du passage entre l'état végétatif et l'état reproducteur du champignon. Elle s'explique par la multiplicité des formes sous lesquelles ce passage peut s'effectuer et la faible différence que présentent parfois ces deux états.

La phrase de Vuillemin (1910, b), alors même qu'il proposait un système de classification fondé sur des observations morphogénétiques, lève cette équivoque : « Les organes de plus en plus compliqués qui caractérisent les diverses catégories d'Hyphomycètes peuvent être envisagés comme

Source : MNHN, Paris

les degrés successifs de la différenciation d'un mycélium primitivement homogène et instable, progressivement fixé dans des formes diverses ».

B. — Différenciation

Si un assez grand nombre de chercheurs se sont intéressés au déterminisme physiologique de la multiplication, peu de travaux ont porté sur les modifications cytologiques qui accompagnent et traduisent au niveau de l'hyphe, le passage de l'état végétatif à l'état reproducteur.

Turian (1974) observe que la différenciation apicale d'une hyphe végétative de *Neurospora crassa*, lors de son passage à l'état sporogène, s'accompagne d'une uniformisation du contenu cytoplasmique qui fait suite à l'organisation polarisée de l'apex végétatif. L'élongation apicale cesse, des mitochondries migrent au sommet de l'hyphe en même temps que cette zone subit un gonflement sans doute dû, selon l'auteur, à une augmentation de la plasticité accompagnée de néosynthèse pariétale et cytoplasmique. Ainsi se formerait la première pro-conidie.

Dans le cas des thalloconidies où la forme conidienne se superpose à la forme végétative, Cole (1975, a) observe une accumulation de noyaux en division dans la région sub-apicale, non cloisonnée, de l'hyphe végétative. L'accroissement apical cesse alors et les cloisons qui individualisent les conidies se forment de façon acropète, puis désordonnée. Dans ces deux cas, il n'y a pas d'élément morphologiquement différencié ou *conidiophore* entre l'hyphe végétative et la conidie.

Notre étude a porté sur des champignons à appareil conidien différencié : filament conidiophore dressé et renflé en ampoule phialidifère pour *Aspergillus tamarii* et *Stilbothamnium nudipes*, ou dressé et ramifié en verticille de cellules sporogènes pour *Penicilliopsis dichotomus*.

1. — *Chronologie de la différenciation.*

Aspergillus tamarii.

Nous avons étudié la chronologie du développement de l'appareil végétatif en appareil conidien sous deux aspects : *aspect macroscopique* de l'ensemble de la culture en boîte de Pétri et *aspect microscopique* par l'observation directe au microscope photonique d'un élément en voie de différenciation.

Une culture de *Aspergillus tamarii* effectuée à 22° en boîte de Pétri sur malt gélosé à 2 % montre, après ensemencement, un développement purement mycélien pendant un temps minimum de 22 à 24 heures. Au terme de cette période, la culture s'étend sur un rayon d'environ 15 mm. Le thalle montre une disposition rayonnante à partir de l'explantat ; il est appliqué à la surface du milieu de culture, puis aérien et dressé vers le centre. L'ensemble de la colonie est blanc.

Au bout de 36 heures, les premiers stades de la phase reproductrice sont repérables à la loupe sous forme de têtes globuleuses blanches, portées par un filament érigé de 1 à 2 mm de haut. Abondantes à la surface de l'explantat, ces ébauches de têtes conidiennes sont plus rares, puis absentes vers la marge blanche de la culture qui consiste en une zone de croissance purement végétative (mycélienne).

Après quatre jours de culture, le mycélium continuant de progresser par la marge, le front d'élaboration de nouvelles vésicules s'avance, tandis que la formation des conidies puis leur maturation, s'effectuent en arrière, correspondant à des zones concentriques de coloration d'abord vert-jaune, tournant au brun vers le centre. Ainsi se différencient une zone « juvénile » hyaline (têtes blanches), à 5 mm en arrière du front mycélien végétatif, une zone intercalaire de conidiogenèse active (jaune-vert) et une zone centrale brune où a lieu la maturation des conidies. Dans la zone de formation conidienne et celle de maturation, on observe encore la formation tardive de nouveaux appareils conidiens de telle sorte que tous les stades y sont présents et mélangés. Il est, dans ces conditions, difficile de suivre avec précision suivant les zones, les stades successifs de la transformation conidiogène, si ce n'est en se référant à la coloration de chaque tête en particulier.

Nous avons pu réaliser une observation suivie de cette transformation grâce à la technique de

Source : MNHN, Paris

la « chambre gélosée » préconisée par Cole et Kendrick (1968) et dont nous avons exposé le principe dans le chapitre « Matériel et Techniques ». La méthode permet l'observation continue d'un seul et même conidiophore en développement. Sur une culture ensemencée depuis 24 heures, nous pouvons repérer un filament conidiophore en raison de son épaisseur et des échinulations qui le différencient des filaments mycéliens sur lesquels il se dresse. Il s'allonge pendant environ 7 heures puis la croissance apicale cesse, le sommet se renfle en spatule (6 heures), puis en ampoule large (50 µm) au bout de 4 heures et demie. Celle-ci se couvre alors de petites protubérances régulières, apparaissant simultanément et dont l'extension se poursuit environ pendant deux heures, jusqu'à la formation synchrone de cellules phialidiques fonctionnelles caractérisées par la présence d'une excroissance apicale, début de la conidiogenèse. La sporulation s'installe alors et les conidies sont émises toutes les 45 minutes (figure 9).

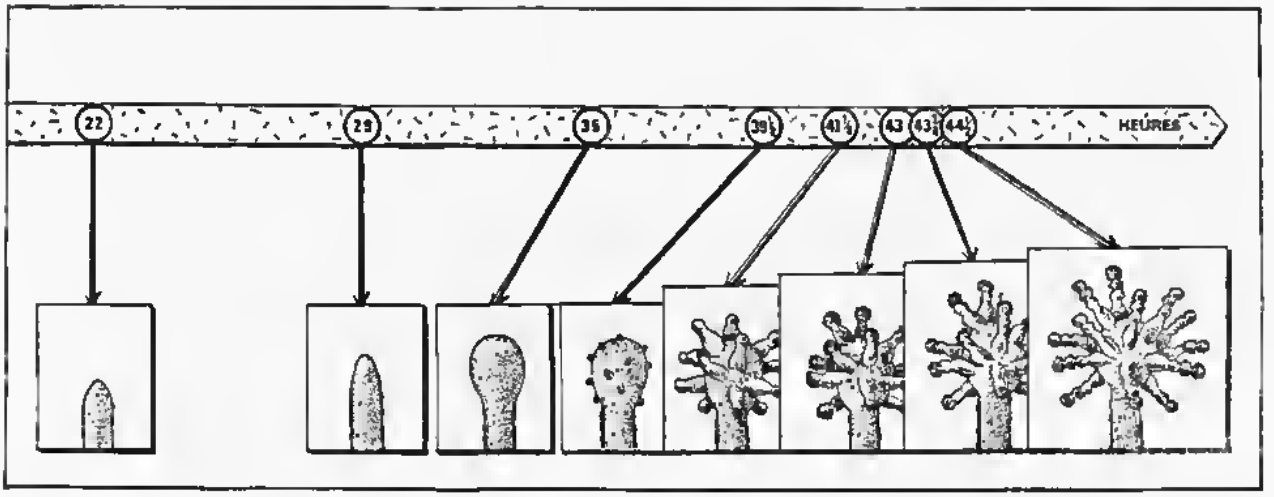


Fig. 9. — Chronologie de la différenciation et du fonctionnement de l'appareil conidien chez *Aspergillus tamarii*.

Au cours de ce développement, des photos, prises toutes les 15 minutes, rendent compte de la dynamique de la différenciation de l'appareil conidien (Pl. 5).

Malgré les observations réitérées qui nous ont permis d'établir une moyenne, nous préférons ne pas nous attacher à la durée chiffrée exacte de chaque étape de la morphogenèse mais plutôt à leur durée relative. Nous constatons que le phénomène de l'élargissement apical du conidiophore jusqu'à la formation complète des phialides est, de loin, le plus long. Lorsque cet appareil est devenu fonctionnel, c'est-à-dire après 20 heures, la conidiogenèse se réalise par contre, de façon très rapide, à raison de 45 minutes par conidie.

Stilbothamnium nudipes.

Au cours de son développement en culture, *Stilbothamnium nudipes* offre la particularité de former des têtes conidiennes d'abord dispersées, puis groupées en corémies.

— Forme mucédinée. L'extension de la colonie et la chronologie du développement de cette forme sont tout à fait comparables à celles que nous venons de décrire pour *Aspergillus tamarii*. Ici toutefois, la phase préliminaire de croissance végétative est beaucoup plus longue (environ 72 heures) et le thalle s'étend sur un diamètre de 5 cm lorsque débute la formation des ampoules conidiennes. Par contre, le déroulement des étapes conduisant de l'hyphe conidiophore à la tête fertile sporulante a la même durée que chez *Aspergillus tamarii* (20 h).

Nous avons observé au M.E.B. les stades successifs de la différenciation des hyphes fertiles

Source : MNHN, Paris

de *Stilbothamnium nudipes* (Pl. 6). Cette observation de surface montre que l'ornementation s'atténue jusqu'au sommet renflé du conidiophore qui est pratiquement lisse. Lorsque la vésicule est achevée, toute la surface se couvre de légers mamelons, formés de façon synchrone et qui apparaissent, au début, unis les uns aux autres par des replis membraneux (Pl. 6, fig. 1). Cette observation suggère que les protubérances, issues de l'intérieur de la vésicule, soulèvent la paroi plus ou moins plastique qui s'étire et sera rompue ultérieurement. En aucun cas, nous n'avons observé de figures suggérant la formation d'un pore suivi d'un affaissement de la paroi vésiculaire et de l'extériorisation du bourgeon tel que le rapporte Hanlin (1976) pour *Aspergillus clavatus*. Bien au contraire, l'examen réalisé au M.E.B. montre, à ce stade précoce, une continuité pariétale entre le bourgeon phialidique et la paroi vésiculaire.

Penicilliopsis dichotomus.

Les cultures de *Penicilliopsis dichotomus* montrent un développement végétatif abondant qui, au bout de 3 semaines, occupe toute la surface de la boîte de Pétri. Au contact des parois de la boîte se forment alors des cordons fertiles souvent aplatis contre le support solide sur lequel ils se forment. Contrairement à ce que nous avons rapporté chez *S. nudipes*, le revêtement conidien est homogène tout au long du cordon témoignant d'une formation synchrone sur des éléments végétatifs qui ont cessé de s'accroître.

L'observation microscopique montre que ces éléments sporogènes sont verticillés. Une première phialide axiale cloisonnée à la base forme une conidie. Deux bourgeons latéraux, issus du filament porteur, se forment ensuite sous la cloison et se développent latéralement en phialides groupées en verticilles.

Des conidiophores de ce type sont généralement disposés sous forme mucédinée, éparse, à la surface du thalle rampant.

Discussion

Les exemples de champignons que nous avons choisis offrent des morpbologies reproductrices variées génétiquement déterminées. L'étude de la chronologie de leur développement montre que le passage de la forme végétative à la forme de multiplication peut comporter jusqu'à 3 étapes : la formation d'une fructification (corémie), la différenciation d'un appareil conidiophore, puis la conidiogenèse à proprement parler. La réalisation des deux premières étapes est sensible aux conditions de culture. En effet, la formation d'une fructification peut être différée comme pour les corémies de *Stilbothamnium* ou de *Penicilliopsis* qui succèdent à une phase mucédinée. Dans les formes à pycnides entre autres, le conidiophore peut totalement disparaître et l'hyphe végétative devenir elle-même conidiogène (Djerbi et al., 1974, Fayret, 1975).

A l'inverse, il existe des exemples où la phase végétative a pu être expérimentalement supprimée ou considérablement abrégée (*Aspergillus niger* : Anderson et Smith, 1971 et 1972, *Neurospora crassa* : Cortat et Turian, 1974, *Penicillium digitatum* : Zeidler et Margalith, 1972 et 1973, *Penicillium urticae* : Sekiguchi et al., 1975), à tel point que la conidie ne germe pas en un mycélium mais porte directement un conidiophore porteur de conidies. Il s'agit du cycle conidiogénétique court ou « microcycle » que Smith décrit en détail (1977) pour *Aspergillus niger*. La phase reproductive d'un champignon peut donc être altérée par modification des conditions de milieu. Cependant, le mode de conidiogenèse semble résister, du moins dans les exemples observés, aux changements des conditions extérieures et conserver son caractère propre, malgré les modifications de l'appareil conidiophore. Cette dernière constatation implique une sorte de dissociation voire d'indépendance, entre l'élaboration de l'appareil conidiophore et la genèse des conidies.

Dans de nombreux cas, l'action de la lumière et de la température sont déterminantes dans l'accomplissement des phases successives de la reproduction (Leach, 1962 et Leach et Trione, 1965).

On ne peut exclure que de telles modifications se produisent dans la nature en réponse à des

Source : MNHN, Paris

variations écologiques. Cette plasticité dans la forme des organes de reproduction pourrait alors svoir une incidence sérieuse sur le plan systématique.

Pour préciser cette indépendance entre l'élaboration de l'appareil conidiophore et la genèse des conidies et la portée de cette sensibilité au milieu extérieur, nous avons tenté de superposer à une constatation d'ordre biologique et morphologique, des observations d'ordre structural afin d'en évaluer les incidences profondes au niveau du cytoplasme.

2. — *Cytolagie de la différenciation.*

a) *Filament conidiophore.*

L'observation microscopique de jeunes cultures de *Aspergillus tamarii* et *Stilbothamnium nudipes* permet de distinguer d'emblée les filaments conidiophores des filaments végétatifs grâce à deux caractères morphologiques : leur épaisseur et leur ornementation, et grâce à leur orientation.

Chez *Stilbothamnium nudipes*, le diamètre des filaments fertiles peut atteindre le double environ de leurs voisins végétatifs. L'épaisseur de la paroi n'étant pas considérablement accrue, c'est donc un volume cytoplasmique plus grand qui se trouve contenu dans le filament appelé à une plus grande activité physiologique.

L'ornementation est constituée de protubérances irrégulièrement rapprochées, plus ou moins saillantes mais dont l'épaisseur peut atteindre 1 µm soit au moins égale à celle de la paroi.

Le conidiophore dans les permiers temps de son développement s'accroît de façon apicale comme une hyphe végétative dont il possède l'organisation cytoplasmique et les composants pariétaux. Son épaisseur augmente par accumulation de cytoplasme et la couche externe de sa paroi s'orne de digitations caractéristiques.

Lorsque le conidiophore a atteint sa taille définitive, le sommet du filament se renfle en une ampoule dont la paroi s'épaissit considérablement. Dans le même temps, la disposition longitudinale et ordonnée des organites fait place à une répartition latérale qui suit la forme élargie du sommet (Hanlin, 1976 et Bujovic-Cvetic et Vujicic, 1974).

b) *Formation des phialides.*

Aspergillus tamarii.

L'arrêt de la croissance apicale du conidiophore et la formation de la vésicule phialidifère d'*Aspergillus tamarii* s'accompagnent d'un épaississement considérable de *la paroi* (11 µm au lieu de 1,3 µm). (Pl. 7).

On y retrouve les couches externes A et B inchangées (A, étroitement appliquée à B ne forme plus d'ornementations à ce niveau) tandis que C s'est notablement accrue. Elle conserve sa structure stratifiée et la coloration de Thiéry permet d'y distinguer 3 strates polysaccharidiques (Pl. 7, fig. 1), d'épaisseur sensiblement égale et de nature comparable. La plus interne suit les indentations du plasmalemme. En des points régulièrement espacés, celui-ci forme des fossettes dans le creux desquelles s'accumulent des vésicules (Pl. 7, fig. 1) qui vont rapidement se multiplier (Pl. 7, fig. 2, 3 et 4). Elles prennent bientôt une disposition en triangle dont la pointe s'insinue dans l'épsisseur de la paroi et dont la base est appliquée à la membrane plasmique. Au voisinage de celle-ci s'accumulent, dans le cytoplasme sous-jacent, un grand nombre de vésicules qui déterminent une activité cytoplasmique intensifiée. Le cytoplasme prolifère alors et occupe la position en triangle des formations vésiculaires externes qui se dispersent à la surface de cette avancée cytoplasmique (Pl. 8).

La progression du cytoplasme vers l'extérieur s'accompagne d'une production de matériel pariétal de même nature que la strate profonde de C comme en témoigne la continuité parfaite observée (Pl. 8) entre le matériel nouvellement formé et la strate la plus interne de C. Sous l'effet de cette poussée venue de l'intérieur se forment des boursouflures à la surface de l'ampoule (Pl. 8, fig. 1, 2, 3 et 4).

Source : MNHN, Paris

Les couches pariétales externes et intermédiaires, A, B et une partie de C, plus rigides, se tendent au fur et à mesure que s'avance le bourgeon cytoplasmique endogène. La couche la plus interne de la paroi, qui garde un caractère juvénile, plastique, peut s'étirer, s'accroître et se différencier indépendamment des autres. Elle enveloppe par étirement le bourgeon cytoplasmique qui continue sa progression jusqu'à traverser la paroi et faire saillie à la surface de la vésicule. Cette protubérance s'allongera encore avant de se différencier en phialide ; elle est alors enveloppée d'une paroi qui est, en réalité, le prolongement d'une strate interne de C de la vésicule mais dont les composants se différencieront, à leur tour, rapidement. Un bourrelet, facilement observable à la base des cellules sporogènes fonctionnelles témoigne, très souvent, de la formation endogène de celles-ci (Pl. 9, fig. 3).

Les événements que nous venons de décrire au cours de la formation des bourgeons phialidiques sont le résultat d'une intense activité cytoplasmique dont nous avons pu suivre les étapes.

Le premier phénomène remarquable est l'accumulation locale de *vésicules cytoplasmiques*. Apparues dès les premiers stades de la genèse de la phialide, elles se multiplient et migrent en groupe vers les lieux privilégiés de prolifération (Pl. 7, fig. 1). D'aspect identique en coloration ordinaire, le test de Thiéry nous permet de distinguer la double nature de ces vésicules qui diffèrent par leur contenu et la nature de leur enveloppe (Pl. 8 et 9). Les unes, fortement réagissantes au protéinate d'Argent, véhiculent des composés de nature polysaccharidique, riches en groupement α glycol libres, tandis que les autres, transparentes aux électrons et de morphologie plus irrégulière, contiennent des corps non réactifs à ces colorants. Elles sont parfois groupées à l'intérieur de vacuoles de plus grande taille qui les transportent jusqu'au niveau du plasmalemme (Pl. 9, fig. 2). La similitude de structure (membrane unitaire) et de réaction au test de Thiéry observée entre les membranes du premier type et le plasmalemme, ainsi que leur migration à travers celui-ci autorisent à penser qu'il peut y avoir fusion entre ces deux éléments. Ainsi, la surface de la membrane plasmique se trouverait accrue et le contenu vésiculaire libéré à l'extérieur. On observe d'ailleurs fréquemment du matériel saccharidique libre disposé à la face externe du plasmalemme (Pl. 9, fig. 1 et 2). Certaines peuvent le traverser en conservant leur structure (Pl. 9, fig. 1 et 2). Le matériel transporté par ces vésicules peut être de nature enzymatique (lyse et synthèse des composants pariétaux) ou composé de monomères destinés à être assemblés *in situ*.

Les observations que nous avons réalisées ne nous permettent pas de conclure sur l'origine des vésicules. Nous n'avons pas rencontré l'appareil de Golgi dont on les fait généralement dériver (Dargent, 1977). Cependant nous avons pu constater la présence, à la base des bourgeons phialidiques, de travées de réticulum parfois en continuité avec les vésicules du 2e type (Pl. 8, fig. 1). Cette situation ainsi que la similitude de réaction aux colorants nous permet de supposer une certaine continuité ontogénique entre les deux.

Un autre aspect de l'organisation cytologique de ces phialides en voie de formation nous paraît tout à fait remarquable. C'est la présence constante de nombreuses mitochondries groupées à la base de bourgeons (Pl. 8 et Pl. 9). Ce fait paraît justifié par la nécessité d'apports énergétiques indispensables aux synthèses nombreuses et rapides dont ces bourgeons sont le siège privilégié.

Apergillus tamarii comme *Stilbothamnium nudipes* ont, à l'état mûr, des phialides qui ne sont pas directement insérées sur la vésicule mais portées par une cellule intermédiaire : *la métule*.

Chez les *Aspergillus* bisériés on interprète la formation de la tête conidienne comme une succession chronologique : d'abord formation d'une couche de métules puis, sur ces dernières formation de verticilles de phialides (Raper et Fennell, 1965). Les observations que nous avons faites montrent que chez *Aspergillus tamarii*, l'individualisation de la métule est secondaire. En effet, lors de l'élaboration des premières spores, la phialide est toujours unicellulaire ; elle se cloisonne ensuite vers le quart inférieur, individualisant ainsi, au sommet, la cellule conidiogène, surmontant une cellule basale à partir de laquelle, chez *Aspergillus tamarii*, vont bourgeonner les phialides secondaires.

Au premier temps de leur fonctionnement, les phialides sont séparées de la vésicule par une cloison incomplète. La persistance du pore central suggère une certaine continuité dans la migration des organites cytoplasmiques, de la vésicule vers la cellule sporogène, au cours de son fonctionnement.

Au début de sa formation, la phialide est un élément cellulaire qui s'accroît par l'apex puis s'amincit et se renfle finalement pour former l'ébauche de la première conidie (Pl. 10 et figure 10). Sa

Source : MNHN, Paris

paroi n'est pas sensiblement différente de celle de l'hyphe végétative. On y retrouve la pellicule externe A, la couche B superposée à une couche plus épaisse C, directement en contact avec le plasmalemme. Au sommet cependant, ces couches externes ne sont pas distinguables (Pl. 10, fig. 1), comme au sommet d'une hyphe végétative, elles ne sont pas encore différenciées. Dans le cytoplasme nous retrouvons la disposition des organites qui rappelle très nettement celle d'un apex hyphal en croissance : le groupement de vésicules cytoplasmiques au sommet, des mitochondries en retrait disposées longitudinalement et, enfin, des noyaux groupés à la base.

Penicilliopsis dichotomus.

Dans le cas de *P. dichotomus*, les phialides ne sont pas portées à la surface d'une structure différenciée comme la vésicule d'*Aspergillus* mais disposées en verticille à l'extrémité d'un filament que rien, au début, ne distingue morphologiquement d'une hyphe végétative.

La première phialide terminale, en continuité avec l'hyphe porteuse dont elle n'est séparée que par une cloison incomplète, commence à élaborer des conidies. Sa paroi est composée des 3 couches A, B et C. La couche profonde C est scindée, au niveau de la cloison, par les prolongements de la zone triangulaire transparente aux électrons qui terminent latéralement le sillon médian.

Les phialides suivantes naissent successivement à quelque distance en dessous de cette cloison. Une excroissance cytoplasmique latérale se manifeste (Pl. 9, fig. 4). Elle est enveloppée d'une nouvelle strate de même nature que la couche interne de C avec laquelle elle apparaît en continuité (Pl. 9, fig. 4). L'étirement de cette strate profonde sous l'action de la pression interne cytoplasmique implique le clivage de la paroi entre la strate interne plastique et les couches externes différenciées qui se déchirent et laissent le passage à l'ébauche de phialide (Pl. 9, fig. 5). Plus tard, cette origine endogène est matérialisée par la présence d'un bourrelet pariétal circulaire à la base de la phialide.

Comme pour *Aspergillus tamarii*, la formation des bourgeons phialidiques s'accompagne, au niveau du cytoplasme de la cellule mère, d'une accumulation de vésicules qui viennent fusionner avec le plasmalemme et déverser leur contenu dans la paroi (Pl. 9, fig. 4). En outre, nous avons fréquemment observé la présence d'un noyau au voisinage immédiat de la très jeune ébauche phialidique (Pl. 9, fig. 4).

Discussion

Des résultats que nous venons d'exposer, il ressort qu'un mécanisme unique préside à la formation des parois lors de la genèse des phialides, qu'elles soient disposées à la surface d'une vésicule ou en verticille.

Parmi les nombreux chercheurs qui ont travaillé sur les *Aspergillus* et leur différenciation, seul Hanlin (1976) s'est intéressé à l'étude ultrastructurale de la formation des phialides chez *Aspergillus clavatus*. Les documents photographiques qu'il publie sont comparables à ceux que nous avons obtenus en 1975 pour *Aspergillus tamarii*. Cependant, son interprétation diffère sensiblement de la nôtre.

En premier lieu, l'auteur observe chez *Aspergillus clavatus* des dépressions superficielles de la vésicule résultant, selon lui, d'une lyse ponctuelle interne de la paroi qui entraîne un affaissement temporaire des couches externes. Plus tard, l'avance du bourgeon cytoplasmique les repousse vers l'extérieur, l'ensemble formant la future phialide. Les observations séquentielles que nous avons pu réaliser sur *Aspergillus tamarii* montrent, au contraire, que seule la strate la plus interne de fa paroi persiste et se développe au cours de la phialogenèse, les couches externes étant lysées ou rompues et rejetées latéralement. Partout la continuité pariétale interne est évidente. En outre, les cicatrices circulaires observables à la hase des phialides ne peuvent s'expliquer que par une rupture des couches externes.

Les résultats similaires obtenus dans l'analyse de la formation des phialides secondaires de *Penicilliopsis dichotomus* confirment cette interprétation. Il apparaît donc que, dans les cas étudiés, où les cellules sporogènes ne sont pas axiales elles sont formées par une protubérance cytoplasmique

Source : MNHN, Paris

qui s'accroît vers l'extérieur et dont la paroi tire son origine de la couche la plus interne de celle de la cellule-mère. Les autres composants pariétaux de celle-ci se trouvent lysés et rompus, laissant le passage au bourgeon phialidique qui se développe et se différencie par la suite.

Nous retrouvons ainsi un processus analogue à celui que nous avons décrit lors de l'émission des ramifications d'une hyphe végétative.

Les phénomènes pariétaux observés s'accompagnent d'une activité enzymatique intense au niveau du cytoplasme, visualisée par la présence de vésicules groupées au point d'émergence. Présentes en grand nombre aux premiers stades d'ontogenèse, elles disparaissent lorsque la cellule sporogène est achevée et fonctionnelle, témoignant ainsi de leur rôle initiateur dans le mécanisme d'élaboration des cellules. Elles peuvent transporter soit des précurseurs des composants pariétaux, soit des enzymes de lyse et de synthèse nécessaires à l'accroissement du bourgeon phialidique.

Il semble qu'il y ait un ordre dans la formation des phialides d'un verticille chez *Penicilliopsis dichotomus*. En effet, une phialide terminale, axiale, s'individualise et devient fonctionnelle avant tout bourgeonnement de phialide secondaire. Ainsi, l'arrêt de la croissance apicale de l'hyphe conidiophore précède l'élaboration du verticille. Les observations réalisées au microscope photonique montrent qu'il en est de même pour les *Aspergillus* bisériés (*A. tamarii*) où la phialide axiale commence à fonctionner, puis se cloisonne à la base pour former une métule à partir de laquelle prendront naissance les phialides latérales.

Cet élément conidiogène latéral peut être plus ou moins développé par rapport à son homologue axial. Dans le cas de *Sesquicillum* par exemple (Gams, 1968), il est réduit à un orifice sporogène, sorte de col court situé sous la cloison basale de la phialide principale.

Les septums situés entre les cellules conidiogènes et le filament porteur ont une constitution de type hyphal. Chez *Penicilliopsis*, les prolongements latéraux du septum clivent en deux la paroi profonde de l'hyphe. Seule, la couche interne reste plastique et susceptible de s'étirer et de se développer, au moins partiellement, pour recouvrir le bourgeon phialidique secondaire. Dans la paroi latérale se forme une zone rectiligne statique qui limite toute nouvelle différenciation. Notre interprétation de ce phénomène repose sur la notion de différenciation de la paroi selon un front progressif de migration de matériaux et d'enzymes, par l'intermédiaire du plasmalemme, se déplaçant du cytoplasme vers l'extérieur. Les prolongements latéraux du sillon constitueraient une ligne de discontinuité dans le transport des matériaux nécessaires à la différenciation. A son contact s'établirait ainsi un front rigide, analogue dans son comportement aux composants externes de la paroi, et limitant les strates plastiques.

En résumé, par delà des différences morphologiques importantes, nous avons pu mettre en évidence, chez *S. nudipes*, *A. tamarii* et *P. dichotomus*, un mécanisme fondamental commun conduisant à la formation des cellules conidiogènes (phialides dans tous les cas) à partir d'hyphes végétatives. La communauté de structure de la paroi de ces deux types d'éléments, végétatif ou reproducteur, est sans doute la cause de leur similitude de comportement. Le morphogenèse repose ici, en effet, sur l'aptitude de la couche pariétale interne à se développer (par acquisition de matériel nouveau venu du cytoplasme et par étirement), de façon préférentielle à travers les strates externes, dont le degré de différenciation est tel qu'il interdit toute plasticité. Seule la formation de la vésicule aspergillaire semble impliquer des mécanismes propres à la forme reproductrice ; il a cependant été observé (Turian, 1974) qu'un arrêt expérimental de la croissance apicale d'une hyphe provoque un épaississement considérable de la paroi à ce niveau.

Il apparaît donc qu'il n'y a pas, dans les exemples choisis, de structure fondamentalement différente entre un élément végétatif et un élément conidiogène. Seule la fonction, c'est-à-dire la production de conidies, peut caractériser la cellule conidiogène.

C'est sur ce point que portera maintenant notre étude.

Source : MNHN, Paris

II. — CONIDIOGENÈSE BASIPÈTE

A. — Définition des phialides-Rappel bibliographique

Après l'étude du mode de formation des cellules conidiogènes à partir de l'hyphe végétative, nous analyserons maintenant la genèse conidienne. Notre recherche porte en premier lieu sur le fonctionnement des *phialides* en raison de leur large répartition et de l'intérêt évolutif que semble présenter ce groupe parmi les formes de reproduction des champignons. En effet, leur présence ne se limite pas aux champignons imparfaits. On les retrouve, d'une façon générale, à l'origine de la genèse des spermaties, éléments fécondateurs des champignons Ascomycètes.

Depuis sa définition par Vuillemin (1910, a), le concept de phialide a sensiblement évolué et dans des directions diverses. Avec l'introduction de la microscopie électronique de nouvelles observations, au niveau ultrastructural, ont été réalisées sans que, jusqu'à ce jour, une conception synthétique ait pu en être dégagée.

Pour Vuillemin, la phialide était le rameau mycélien immédiatement situé sous les conidies auxquelles il donne naissance. Ce rameau, renflé à la base, puis étiré en un col percé d'un orifice sommital par lequel sont émises les conidies, présente une morphologie particulière, en forme de bouteille, d'où il tire son nom : *phialide* (du grec *phiala* : fiole, flacon).

Bien que fondamentale, cette première description strictement morphologique apparaît quelque peu restrictive. Vingt ans plus tard, lorsque les mycologues cherchèrent à appliquer la « classification rationnelle des Hyphomycètes » préconisée par Vuillemin, ils furent amenés à préciser la notion de phialide en l'élargissant de façon à recouvrir un plus grand nombre de formes naturelles. Mason (1933) décrivit sous ce terme des cellules sporogènes qui n'avaient plus rigoureusement la forme d'une bouteille et ajouta à la définition primitive, des caractères concernant la disposition des conidies, en chaînes ou en têtes, selon leur nature sèche ou muqueuse.

Dans sa classification expérimentale des Hyphomycètes fondée sur l'ontogénie des conidiophores et des conidies, Hughes (1953) créa une section particulière pour les organismes dont les conidies « se forment en succession basipète à partir de l'apex d'un conidiophore (phialide) qui possède ou non une collerette nettement visible ». Il n'exclut pas la possibilité pour une phialide de proliférer (*Catenularia*), par contre il en distingue les cellules conidiogènes offrant une morphologie analogue, mais dont le col s'accroît lors de l'émission basipète de chaque conidie, élaborant ainsi des annellations cicatricielles superposées, visibles au microscope optique. Pour ce type de cellules conidiogènes, il proposa le terme d'*annellophores*. Ainsi, une observation approfondie permit dans un premier temps, d'isoler d'un ensemble de structures de morphologie comparable, un groupe assez nettement caractérisé et différant des phialidés par leur conidiogenèse.

Tubaki (1963) devait, à son tour, diviser les représentants du groupe des phialidés, redéfini par Hughes (section IV), selon le lieu exact de la formation des conidies au niveau du col. Une première section IVa englobe les conidies à formation endogène (à l'intérieur du col allongé de la phialide, type *Chalara*) tandis que la deuxième section IVb recouvre un mode de formation sub-endogène, à l'extrémité du col, le bourgeon se trouvant ainsi rapidement porté à l'extérieur de la phialide.

Plus tard, l'étude séquentielle de la conidiogenèse devait permettre à Madelin (1966), puis Cole et Kendrick (1969), d'apporter des précisions supplémentaires à la définition de ce type de cellules sporogènes.

En 1969, les mycologues spécialistes des Hyphomycètes tentèrent, à la lumière des données nouvellement acquises, de faire une synthèse des conceptions diverses et de redéfinir la phialide (Subramanian, 1971). Deux aspects apparurent fondamentaux : les relations pariétales phialide-conidie et le mode de libération de la première conidie. Ce dernier point constitue en effet une étape décisive de la transformation d'un rameau mycélien, encore végétatif, en élément reproducteur. La définition

Source : MNHN, Paris

suivante fut finalement proposée (KENDRICK, 1971) : « Une phialide est une cellule conidiogène qui produit, à partir d'un locus conidiogène fixe, une succession basipète de conidies *dont les parois se forment de novo.*

La première conidie se forme à l'intérieur d'une extension apicale de la cellule sporogène ; elle est libérée par la rupture ou la désagrégation de la paroi du sommet de la phialide. Par la suite, la zone pariétale située entre le point de rupture et le locus conidiogène forme la collerette. La longueur de la phialide n'est pas modifiée par suite de la production de conidies. Exemple type de phialide : *Phialophora verrucosa* Medlar ».

Ainsi, à une définition de la phialide purement morphologique, se superpose au cours des ans, une conception ontogénique, où le lieu et le mode d'élaboration des conidies deviennent prépondérants. A la notion originelle de rameau mycélien porteur de conidies (VUILLEMIN), on tend ainsi à substituer celle d'un organe différencié, siège des mécanismes propres à la conidiogenèse.

Les théories concernant l'origine et l'évolution des phialides formulées par CHADEFAUD (1960, a) et HUGHES (1971, b) principalement, tendent d'ailleurs à faire dériver la phialide de sporocystes (= conidiocystes) transformés, c'est-à-dire d'éléments particuliers où la formation simultanée de spores endogènes se trouve peu à peu remplacée par une élaboration successive et sub-endogène. Nos résultats concernant le mode de formation des phialides nous ont, au contraire, momentanément conduite à les considérer comme des rameaux végétatifs spécialisés. Nous nous proposons donc maintenant de reprendre cette question, en analysant le mécanisme de leur fonctionnement.

B. — ANALYSE DE LA CONIDIOGENÈSE

1) *Aspergillus tamarii.*

— *Formation de la première conidie.*

A une organisation cytologique de filament en croissance se substitue, au début du fonctionnement d'une phialide, une orientation particulière des organites. Ils subissent une dispersion latérale accompagnée d'un élargissement du bourgeon conidien apical, dû à une synthèse pariétale, non plus limitée à l'apex mais élargie en une sorte de dôme qui coiffe largement le sommet. La répartition des organites perd alors son orientation axiale et tend vers une disposition circulaire qui épouse la forme générale de cet apex subsphérique (Pl. 10, fig. 2 et 3). Sous l'action de la poussée rapide de ce bourgeon, les fines couches externes A et B n'ont pas le temps d'être complètement différenciées (Pl. 10, fig. 4). Ainsi se forme le premier bourgeon conidien enveloppé seulement, au début, par la couche interne de la paroi phialidique. Les noyaux et les mitochondries ainsi que les autres organites y migreront ensuite (Pl. 10, fig. 4). La première conidie s'individualise par une cloison qui se forme au rétrécissement de la phialide (figure 10).

La dépolarisation de l'apex phialique et la formation de la première spore mettent un terme à l'accroissement apical de l'hyphe conidiophore et visualisent ainsi la fonction proprement conidiogène de ce rameau.

Après la formation de la première spore, le lieu d'élongation de la phialide se trouve définitivement fixé en-deçà de la première cloison phialide-conidie. Un accroissement sub-apical remplace ainsi l'accroissement apical caractéristique du filament végétatif.

— *Formation des conidies successives.*

Pour plus de clarté dans l'exposé de l'évolution des composants pariétaux, nous avons été amenée à leur affecter une lettre. Cependant, les diverses couches de ces éléments jeunes doivent, comme dans l'appareil végétatif, être considérées comme les stades successifs d'une paroi en évolution. *La paroi* de la phialide est donc constituée d'une pellicule externe A prolongée vers l'intérieur par une couche B suivie d'une couche pariétale C ou couche profonde, homogène et contiguë au plamalemme.

Au cours de la formation des bourgeons conidiens, on observe une continuité remarquable

Source : MNHN, Paris

(Pl. 11) entre la couche interne de la paroi phialidique et l'enveloppe des bourgeons conidiens successifs, qu'elle coiffe et accompagne dans leur développement.

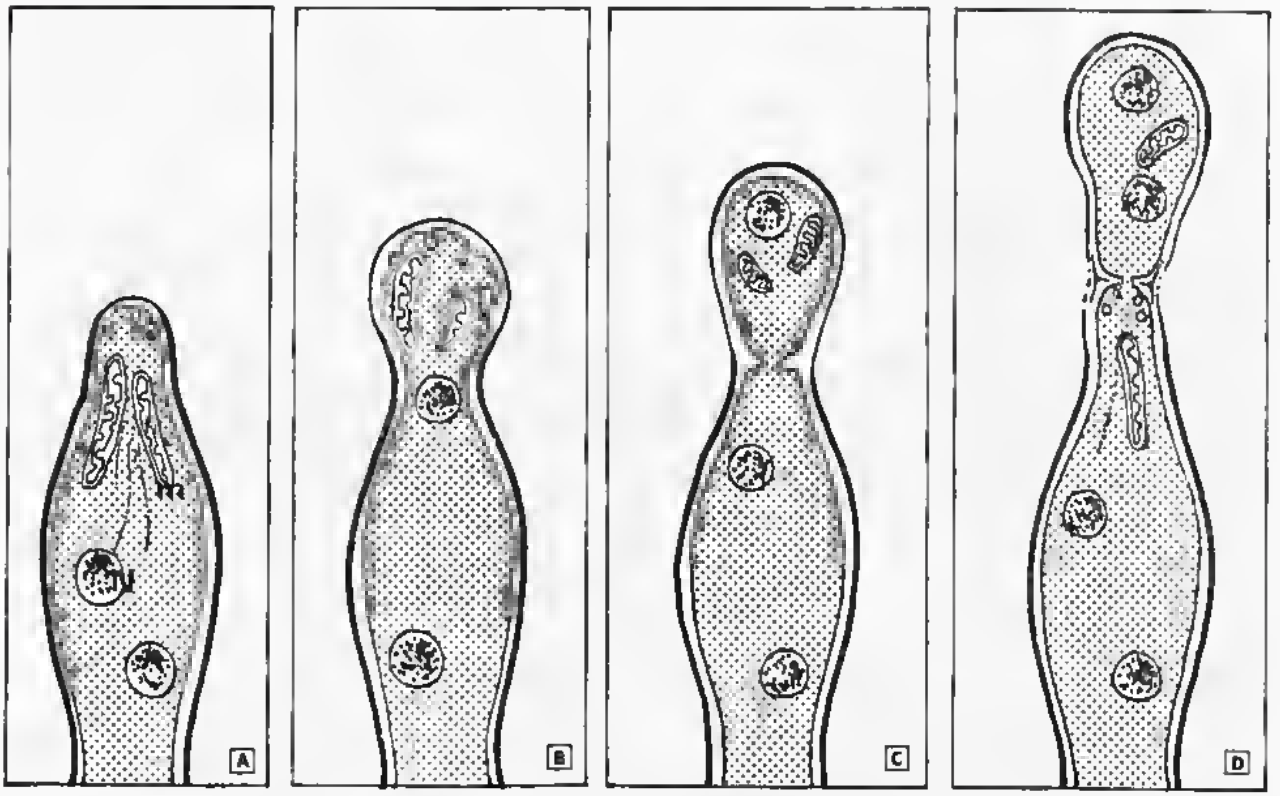


Fig. 10. — Initiation du fonctionnement conidiogène de la phialide.

A : accroissement apical montrant une organisation analogue à celle d'un filament végétatif ; **B** : arrêt de la croissance apicale ; l'apex se renfle en un primordium conidien où migre un noyau.

C : individualisation du primordium par formation d'une cloison ; **D** : reprise de l'accroissement, au sommet de la phialide, sous la cloison conidienne.

L'individualisation d'une conidie résulte de la formation d'un septum. Celui-ci débute par une invagination centripète du plasmalemme (Pl. 11, fig. 1 et 2) et de la strate interne de la couche pariétale C qui lui est attenante. En effet, cette couche C, au niveau de la future cloison se clive en deux strates : l'une, externe, C1, continue de la phialide à la conidie, l'autre interne, C2, s'invaginant pour former le septum en laissant au point d'invagination une zone triangulaire (Pl. 11, fig. 2). Au fur et à mesure de sa progression vers le centre, la couche C2, en formation cunéiforme, se différencie. Deux liserés sombres, fortement réactifs au test de Thiéry, bordent ses faces opposées, laissant entre eux une zone médiane plus claire (le sillon) ; le clivage de la paroi interne de la phialide s'accuse au niveau de la base de la zone triangulaire. Les 2 lames septales C2 délimitent finalement un pore central longtemps persistant. Nous n'y avons pas observé de corps de Woronine.

Jusqu'ici, les étapes du cloisonnement entre la cellule conidiogène et la conidie sont les mêmes que dans les hyphes végétatives. Le stade suivant est marqué par une différenciation simultanée des composants du septum et de la paroi conidienne, *différenciation propre à l'état conidien* (Pl. 12 et fig. 11).

Elle débute, dans le col de la phialide, par un épaississement assez considérable du septum consistant dans la production, de façon symétrique, d'une épaisse couche lamellaire de part et d'autre du sillon médian (Pl. 12, fig. 3 et 4). Seule la coloration de Thiéry en révèle la constitution faite de

Source : MNHN, Paris

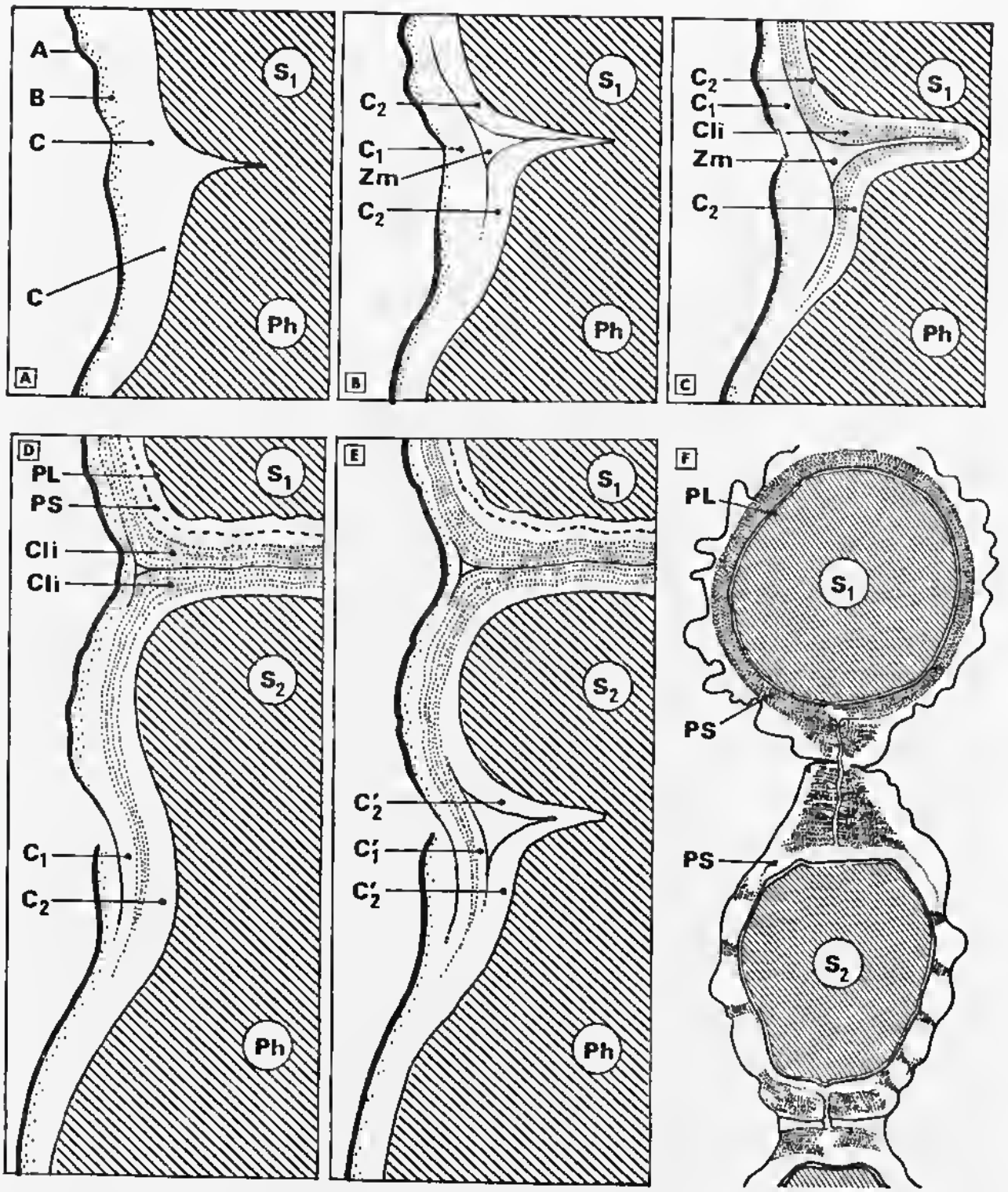


Fig. 11. — Conidiogenèse chez *Aspergillus tamarii*.

A : Formation de la première spore S1 (Ph : phialide). Les couches A, B et C sont continues de la phialide à la spore.

B : Différenciation du septum (Zm : zone médiane) et clivage de la couche C en C1 et C2. **C** : Différenciation de la couche lamellaire intermédiaire Cli et rupture des couches A et B. **D** : Formation de la deuxième conidie. Les couches A, B et C1 forment un épaississement au niveau du col ; **E** : Formation du deuxième septum et clivage de la couche C2 d'origine en C'1 et C'2 ; **F** : Différenciation de la paroi sporale (Ps), à l'intérieur de la chaîne.

Source : MNHN, Paris

granules réactifs au protéinate d'Argent, alignés et disposés en files parallèles à la surface de la conidie (Pl. 12, fig. 4). Cet épaississement se propage d'une part vers la conidie dont elle constituera la couche pariétale intermédiaire, et d'autre part vers le bourgeon qu'elle recouvre. En raison de sa position entre les couches originales C1 et C2, nous appellerons cette nouvelle strate : *couche lamellaire intermédiaire* Cli. Son extension repousse latéralement la strate C1 étirée et confondue alors avec les couches externes. A l'intérieur de cette gaine, les territoires cytoplasmiques conidiens et phialidiques sont délimités par la couche C2, appliquée au plasmalemme (Pl. 12, fig. 2, 3 et 4). Le sillon médian persiste encore sous forme d'un mince liseré transparent aux électrons. La différenciation de la couche lamellaire entraîne un épaississement considérable du septum et de la paroi conidienne et leur confère une nature propre, différente de celle d'un fragment d'hyphe auquel il pouvait être assimilé jusqu'à ce stade.

Ainsi commence la différenciation proprement conidienne des parois. Nous en étudierons le déroulement dans un chapitre ultérieur.

Le sommet de la phialide continue de s'accroître ; la conidie et le septum qui la délimite se trouvent portés hors du col, dégageant ainsi une *nouvelle ébauche conidienne sous-jacente* (Pl. 13, fig. 1). Sous l'effet de cette pression axiale, les composants pariétaux externes, A, B et C1 sont étirés puis rompus au niveau du col. La jeune conidie possède alors une paroi composée d'une couche profonde C (C2 d'origine) autour de laquelle se reconstituent rapidement les composants externes A et B. La couche C1, étirée, n'est plus distincte. Après un certain temps, cette nouvelle ébauche sera, à son tour, individualisée par une cloison qui s'effectue *et c'est bien là l'originalité de ce type de cellules conidiogènes, dans le col, au même niveau que les précédentes.* Sa formation entraînera à nouveau le clivage de la couche C (C2 de la couche C originelle) et l'apposition latérale d'une nouvelle strate résiduelle (Pl. 14, fig. 1 et 2).

A l'intérieur du col de la phialide, les structures sont maintenues par une paroi fixe qui limite les possibilités d'extension. Il en résulte une accumulation de strates concentriques, plus ou moins marquées, progressant vers l'intérieur du col et finissant, à la longue, par l'obturer. La structure lamellaire de cet épaississement est, dans la plupart des cas, nettement observable (Pl. 14, fig. 1 et 2). Sa formation est une conséquence directe de la fixité du lieu de septation. En effet, les cloisonnements étagés vers l'extérieur de la cellule sporogène (annellides) impliquant le même clivage longitudinal de la paroi entraîneraient des épaississements étagés moins considérables que ceux que nous observons dans le cas des phialides. Nous reviendrons sur ce point dans la discussion.

Les parois des conidies successives ont, comme nous venons de le voir, une origine commune : la paroi de la phialide. La continuité de ces composants ainsi que leur plasticité, alliées à la persistance des septums, expliquent la disposition caténée et cohérente des phialospores de *Aspergillus tamarii*. Bien que les strates externes aient tendance à se confondre au fur et à mesure que l'on s'éloigne du locus conidiogène, nous avons pu observer la structure de la gaine commune qui les unit (Pl. 13). Chaque cellule est entourée d'une couche mince régulière, uniforme, C2, qui s'amincit au niveau du pore septal à l'intérieur duquel elle pénètre, au moins dans les stades jeunes (Pl. 13, fig. 2). Elle est limitée latéralement par la couche lamellaire intermédiaire où se sont reconstituées les couches externes A et B. A la base et au sommet de chaque conidie persistent un certain temps les restes des couches C1 entre la couche lamellaire et les couches A et B (Pl. 13, fig. 1).

Ces différentes couches, encore identifiables dans les stades très jeunes, ne le sont plus au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la zone sporogène. La chaîne conidienne n'apparaît donc pas composée d'éléments cellulaires contigus réunis dans une gaine externe indépendante à la manière des graines dans une gousse, mais plutôt comme un ensemble continu dont les éléments dépendent les uns des autres. Au sein de cet ensemble vont se différencier les constituants propres à chaque conidie, qui deviendra alors un élément autonome.

Outre la présence de cette gaine continue, l'homogénéité et la persistance des septums interconidiens sont des facteurs de cohésion caténaire très importants chez *Aspergillus tamarii*. La structure homogène du septum, longtemps intacte, confère une grande stabilité au connectif. Dès que celui-ci sera gagné par la différenciation, il perdra son homogénéité et deviendra plus fragile et susceptible d'être rompu. Cette notion d'hétérogénéité structurale du septum a pour nous, une importance consi-

Source : MNHN, Paris

dérable dans la disposition des phialoconidies en chaînes ou en têtes (Roquebert, 1976), à cause de la dislocation rapide qu'elle entraîne.

2) *Stilbothamnium nudipes.*

— *Formation des conidies successives.*

La formation des conidies de *Stilbothamnium nudipes* se déroule suivant un processus comparable à celui de *Aspergillus tamarii.*

Un accroissement préférentiel d'une couche interne de C, accompagné d'un clivage longitudinal de la paroi en C1 et C2, est à la base de ce mode de développement (Pl. 15). L'enveloppe pariétale nouvellement délimitée s'applique au plasmalemme de l'ébauche conidienne et l'accompagne dans son développement hors du col de la phialide. Lorsque le bourgeon a atteint sa taille à peu près définitive, il est délimité au niveau du col de la phialide par une cloison transversale de type hyphal par sa genèse et sa composition (Pl. 16). Dès que le cloisonnement est achevé, le sommet de la cellule phialidique reprend une activité cytoplasmique de croissance, poussant hors du col la jeune conidie et son septum. Ceux-ci sont portés vers l'extérieur par un mouvement axial auquel seule participe la couche interne C2 de la paroi de la cellule conidiogène, les couches A, B et C1 étant étirées puis rompues (Pl. 15, fig. 1). Au cours de la progression vers l'extérieur, les composants externes A et B se reconstituent rapidement et l'on retrouve ainsi, autour de la conidie, une paroi de composition apparemment identique à celle de la cellule-mère.

Ce mécanisme de repousse et de cloisonnement se répète au même niveau pour chaque conidie nouvellement formée. Les restes des couches externes A, B et C1, rompues à chaque individualisation d'une conidie, se superposent ainsi à l'intérieur du col où elles forment un épaississement annulaire fibreux dont l'épaisseur croît avec l'âge de la phialide et le nombre de conidies émises (Pl. 15, fig. 2 et 3 et figure 12). Finalement, le col de la phialide peut être pratiquement obturé par ce bourrelet (Pl. 15, fig. 3).

La conidiogenèse itérative et l'origine pariétale commune entre la phialide et les conidies successives expliquent la disposition caténée de ces dernières. Elles sont d'abord unies entre elles par les septums puis, seulement juxtaposées lorsque, assez rapidement, ces cloisons sont clivées (Pl. 16, fig. 6). Nous avons pu suivre l'évolution d'un septum depuis sa formation jusqu'à sa lyse. A la différence d'*Aspergillus tamarii*, il ne se forme pas, dans les cloisons conidiennes de *Stilbothamnium nudipes*, de nouvelle strate comparable à la couche lamellaire intermédiaire. D'aspect homogène lorsqu'il s'établit dans le col de la phialide, il se différencie par la suite en deux couches parallèles séparées par un sillon médian (Pl. 16, fig. 4). C'est sous cette forme, quoique légèrement épaissi, que nous le retrouvons à l'extérieur de l'orifice du col. Bientôt se produit la lyse centripète de la zone triangulaire latérale et du sillon médian accompagnée de la différenciation d'une nouvelle pellicule externe sur chaque face médiane du septum (Pl. 16, fig. 5 et 6).

Les étapes de la lyse septale seront exposées au cours de l'étude de la libération des conidies.

Dans la jeune phialide de *Stilbothamnium nudipes*, les organites cytoplasmiques sont répartis selon une disposition particulière (Roquebert, 1973). Nous y avons régulièrement observé plusieurs noyaux situés vers la base, le sommet étant occupé par des mitochondries et des travées longitudinales de réticulum. Au sommet de la cellule on remarque, dans le cytoplasme immédiatement situé sous le septum conidien, une accumulation importante de vésicules dispersées, ou parfois groupées contre le plasmalemme. Par analogie avec les mécanismes d'accroissement hyphal que nous avons exposés plus haut, nous sommes tentée d'attribuer à ces corpuscules un rôle dans les synthèses pariétale et cytoplasmique actives qui se déroulent au niveau du locus conidiogène. Nous retrouvons ici la disposition typique d'un élément en voie de croissance, à savoir, de l'apex vers la base : des vésicules, des mitochondries et du réticulum allongés puis les noyaux.

La jeune conidie est plurinucléée ; elle présente de nombreuses mitochondries et des vésicules dispersées. Nous avons remarqué l'absence, dans ces éléments de conservation que constituent les conidies, comme dans la phialide, de réserves habituelles telles que le glycogène ou les lipides (Pl. 17, fig. 1).

Source : MNHN, Paris

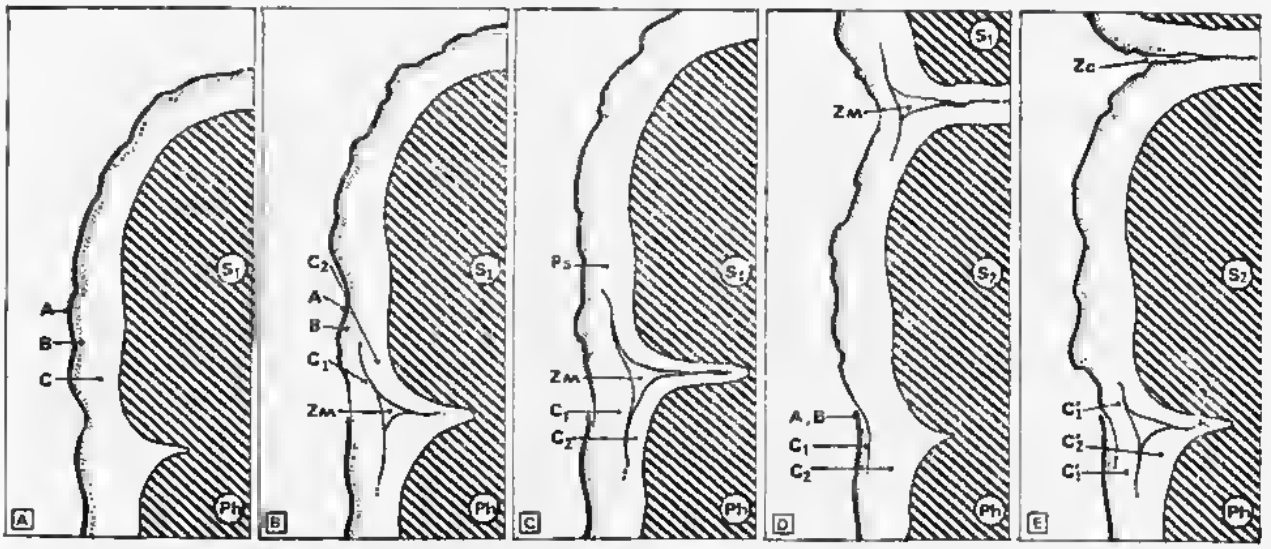


Fig. 12. — Conidiogenèse chez *Stilbothamnium nudipes*.

A, B et C : Formation de la première conidie avec clivage de la couche pariétale C en C1 et C2 et rupture des couches A et B. **D** et **E :** Formation de la deuxième conidie avec clivage de la couche C2 précédente en C'1 et C'2. La couche C1 primaire forme une strate « résiduelle » à l'intérieur du col. A la différence de *A. tamarii* (fig. 11), on n'observe pas ici de couche lamellaire intermédiaire.

De l'ensemble des résultats précédents, il ressort une grande similitude de composition et d'organisation entre un filament végétatif, la phialide et la conidie de *Stilbothamnium nudipes*. Cette dernière ne présentant pas de structure liée à sa fonction peut être assimilée à un simple fragment de mycélium destiné à la propagation. C'est, au sens propre du terme : une *propagule*.

Discussion

Préalablement à toute discussion sur nos résultats, rappelons la définition proposée par Kendrick (1971) et qui constitue le point de départ de toutes les recherches effectuées au cours des dernières années.

La phialide est caractérisée par :

— un locus conidiogène fixe ;
— la néoformation de la paroi sporale ;
— la rupture de la paroi phialidique en un point plus ou moins éloigné de l'apex primaire, sous la pression de la première conidie endogène.

Ces particularités ont été précisées en introduisant la notion d'*entéroblastie*, ce vocable désignant toute conidiogenèse où la paroi de la cellule-mère ne participe pas (phialide) ou seulement partiellement (porospores) à l'édification de la paroi conidienne. Elle s'oppose à la formation *holoblastique* de conidies où l'intégralité de la paroi est impliquée dans la conidiogenèse.

Ces notions avaient été proposées en conclusion à des études essentiellement réalisées en microscopie photonique. Depuis lors, elles furent reprises et discutées grâce à des analyses effectuées en microscopie électronique. Elles ont porté sur divers types de matériel (phialides à conidies en têtes ou en chaînes, avec ou sans collerette) et ont été diversement interprétées. Afin d'alléger l'exposé de ces travaux depuis 1965, nous les avons consignés sous forme de tableau récapitulatif (Tableau 3).

En 1976, nous en avons proposé une synthèse dont nous reprendrons ici les principaux points en y incluant les données nouvelles.

Source : MNHN, Paris

Tableau 3. — Revue bibliographique des principaux travaux effectués sur la conidiogenèse phialidique.

Matériel	Auteurs	Année	Technique
Phoma-Ascochyta	Brewer J. G. et Boerema G. H.	1965	M.E.T.
Penicillium claviforme	Zachariah K. et Fitz-James P. C.	1967	M.E.T.
Neurospora crassa	Lowry R. J. et al.	1967	M.E.T.
Aspergillus giganteus	Trinci A. P. J. et al.	1968	M.E.T.
Neurospora crassa	Oulevey-Matikian N. et Turian G.	1968	M.E.T.
Penicillium, Phialophora, Ceratocystis	Cole G. T. et Kendrick W. B.	1969	M.O.
Penicillium sp.	Laane M. A.	1969	M.O.
Thielaviopsis basicola	Delvecchio V. G. et al.	1969	M.E.T.
Verticillium albo-atrum, V. nigrescens	Buckley P. M. et al.	1969	M.O., M.E.T.
Penicillium clavigerum claviforme corymbiferum	Fletcher H. J.	1971	M.E.T.
Metarrhizium anisopliae	Hammill T. M.	1972, a	M.E.T.
Aspergillus nidulans	Oliver P. T. P.	1972	M.E.T.
Stachybotrys atra	Campbell R.	1972	M.E.T.
Paecilomyces berlinensis	Ola'h G. M.	1972	M.E.T.
Stilbothamnium nudipes	Roquebert M.-F. et Abadie M.	1972	M.E.T.
Aspergillus tamarii	Roquebert M.-F.	1973	M.E.T.
Aspergillus fumigatus	Ghiorse W. C. et Edwards M. R.	1973	M.E.T.
Termitaria synderi	Khan S. R. et Aldrich H. C.	1973	M.O.
Aspergillus spp.	Tokunaga M. et al.	1973	M.E.T., M.E.B.
Phialocephala dimorphospora	Carroll G. C et Carroll F. E.	1974, b	M.E.T.
Trichoderma saturnisporum	Hammill T. M.	1974	M.E.T.
Phialophora richardsiae	Ola'h G. M. et Reisinger O.	1974	M.E.T.
Memnoniella echinata	Campbell R.	1975, a	M.E.T.
Fusarium culmorum	Marchant R.	1975	M.E.T.
Sporothrix, Exophiala, Geotrichum, Microsporum	Cole G. T.	1976	M.O.
Aspergillus clavatus	Hanlin R. T.	1976	M.E.T.
Aspergillus terreus	Fletcher J.	1976	M.E.T.
Phoma pomorum etc...	Jones J. P.	1976	M.E.T.
forme *Chalara* de *Ceratocystis*	Hawes C. R. et Beckett A.	1977	M.O., M.E.T.
Pestalotiopsis neglecta	Jones J. P.	1977	M.E.T.
Coniothyrium cupressacearum	Reisinger O. Morelet M. Kiffer E.	1977	M.E.T.
« *Patterns of development in conidial fungi* »	Cole G. T. Samson R. A.	1979	M.E.T., M.E.B.

Source : MNHN, Paris

a) Bien que portant, comme nous l'avons dit, sur du matériel varié, l'ensemble des résultats acquis à ce jour paraît confirmer un point fondamental : *l'unité et la fixité du locus conidiogène dans la phialide.*

Qu'il s'agisse de phialides avec ou sans collerette, à conidies en chaînes ou en têtes, l'épaississement pariétal du col qui résulte, selon nos recherches, de la stabilité du lieu de cloisonnement basal de la conidie, est partout présent. Il provient de clivages répétés à un même niveau ; les couches A, B et C1 successivement rompues se trouvent rejetées vers l'extérieur, l'ensemble formant le col de la phialide. Nous pensons que cet épaississement annulaire et la fixité du locus conidiogène dont il découle, caractérisent la phialide.

Toutefois, à côté de cette définition stricte de la phialide, on peut envisager une série évolutive au cours de laquelle le locus conidiogène perd plus ou moins sensiblement sa fixité. Un terme précis de cette évolution est représenté par les *annellides* où la conidiogenèse s'effectue, chaque fois, à un niveau différent, causant un allongement sensible de la cellule conidiogène (Hammill, 1971, 1973 et 1977). Par ailleurs, l'étude de la forme *Chalara* de *Ceratocystis adiposa* (Hawes et Beckett, 1977) où les conidies se forment successivement et sont alignées à l'intérieur du col allongé de la phialide (section IV (a) de Tubaki), révèle clairement l'absence d'unité du locus conidiogène et d'épaississement local caractéristique. La convergence entre nos résultats et ceux des autres chercheurs concernant la fixité du locus conidiogène nous conduit à écarter ce type de conidiogenèse du groupe des phialidés pour le rapprocher plutôt des arthroconidies méristématiques (type 1, selon Kendrick, 1971).

b) *Les rapports entre les parois conidiennes et phialidiques* que nous observons correspondent, iconographiquement, à ceux que publient les autres chercheurs. Cependant, nous sommes amenée à interpréter différemment les documents.

En effet, la plupart des auteurs restent attachés à la conception organique propre de la phialide (dérivant d'un sporocyste) et, en particulier, à la formation de la paroi conidienne *de novo*. Pour nous, il y a formation *de novo* lorsque l'enveloppe sporale provient de synthèses particulières, effectuées vraisemblablement à partir du réticulum, autour d'un territoire cytoplasmique nucléé comme par exemple, lors de la formation des ascospores à l'intérieur de l'asque (Schrantz, 1970 ; Janex-Favre, 1978), ou des spores de Mucorales dans un sporocyste. Si l'on pouvait conclure, à partir de certaines observations réalisées au microscope photonique, qu'un tel mécanisme puisse se produire de façon réitérée à l'intérieur du col de la phialide, les documents que nous avons obtenus en microscopie électronique montrent à l'évidence qu'il n'en est rien.

La paroi primaire de la conidie est un prolongement de la couche profonde de la phialide dont elle est issue. Il y a toujours continuité pariétale et cytoplasmique entre le bourgeon sporal et la cellule conidiogène. La phialioconidiogenèse n'implique pas d'autres mécanismes pariétaux que ceux qui interviennent dans la morphogenèse hyphale.

La « néoformation » telle que la figurent Cole et Kendrick, 1969 et 1976 et Gams, 1978, implique que celle-ci soit indépendante et se superpose à la formation du septum phialide-conidie. La succession rapide de la formation des conidies entraînerait qu'à un moment donné, on observe dans le col de la phialide, soit une formation septale asymétrique à 3 couches : 2 appartenant au septum et une au bourgeon suivant (Gams 1978), soit un septum à 1 couche juxtaposé à une jeune paroi sporale (Morgan Jones, 1972). Aucun des documents publiés ne présente une telle formation. Partout, au contraire, nous montrons la même symétrie septale et la même continuité interne de la phialide et de la conidie.

c) *La formation de la première conidie* par laquelle un rameau mycélien acquiert sa nature conidiogène est une étape importante au point de vue fonctionnel et morphologique. La faible différenciation des premiers stades de développement de la première conidie à l'apex de la phialide, telle que nous l'avons décrite chez *Aspergillus tamarii*, explique la difficulté d'observation et le peu de documents que l'on possède sur ce sujet (Ghiorse et al., 1972, Fletcher, 1976 et Hanlin, 1976). Ils correspondent, dans l'ensemble, au schéma que nous en avons donné : formation blastique d'un bourgeon par *accroissement préférentiel de la couche interne de la paroi phialidique*. Nous nous gardons volontai-

Source : MNHN, Paris

rement d'employer le terme « holoblastique » puisque ce n'est pas ici la paroi conidiogène dans son intégralité qui forme la première conidie mais seulement son constituant le plus interne, C.

d) La mise en évidence de la *dépolarisation des organites cellulaires*, en particulier celle des vésicules cytoplasmiques qui perdent leur localisation strictement apicale, rejoint les observations de Cole (1977) sur l'initiation de la conidiogenèse blastique. Ce remaniement local avait été suggéré par Turian (1974) au cours de la transformation de l'hyphe végétative de *Neurospora crassa* en hyphe conidiogène.

e) Les couches externes de la paroi phialidique, lorsqu'elles sont plastiques, peuvent accompagner assez longtemps le bourgeon sporal dans son développement (Carroll et Carroll, 1974, a). De ce fait, le premier cloisonnement, qui fixe le locus conidiogène, s'établit bien en retrait de l'apex, et les couches externes, finalement rompues, forment une collerette. Cette dernière est une formation résiduelle qui persiste et reste observable au microscope lorsqu'elle est de nature rigide, dématiée par exemple (*Phialophora*), tandis qu'elle se résorbe et tend à disparaître chez les champignons hyalins.

f) La cloison entre la phialide et la conidie de *Aspergillus tamarii* présente un pore longtemps persistant dans la chaîne de spores. Il disparaît, par contre, rapidement chez *Stilbothamnium nudipes*. En aucun cas nous n'y avons observé de corps de Woronine. Ce caractère a été rapporté par Carroll et Carroll (1974, b) chez d'autres phialidés (*Phialocephala dimorphospora*). Les auteurs, suivis par Cole (1979) proposent de faire de ce dernier fait une caractéristique de la phialide. Ils l'opposent ainsi, en effet, à l'annellide où ces corpuscules sont régulièrement observés à l'orifice du pore conidien. Rappelant que ces observations sont faites sur des coupes dont il est parfois difficile de repérer le niveau exact, il nous paraît hasardeux d'attribuer à un caractère négatif une valeur caractéristique pour un type de cellule sporogène. Des observations plus nombreuses et des coupes sériées pourraient, seules, justifier cette opinion.

g) *La différenciation secondaire de la paroi conidienne peut être plus ou moins précoce.* Chez *Trichoderma saturnisporum* (Hammill, 1974), elle suit immédiatement la formation de septum. De ce fait, la paroi du bourgeon, très tôt différente de celle de la cellule-mère, a pu être interprétée comme une néoformation. Les premiers stades de l'ontogénie en montrent bien, cependant, l'origine phialidique. Chez les *Aspergillus* et *Penicillium* cette différenciation est, par contre, différée jusqu'en des points éloignés de la chaîne, conférant ainsi longtemps à celle-ci l'aspect d'une hyphe (Fletcher, 1971 et 1976 ; Roquebert, 1973). Les résultats de Ghiorse (1973) obtenus sur *Aspergillus fumigatus* se rapprocheraient plutôt de ceux que nous avons décrits chez *Stilbothamnium nudipes* où la désagrégation plus rapide des chaînes résulte d'une faible différenciation pariétale de la conidie. Sur le plan systématique, cette dernière constatation suggère que, au sein du groupe morphologique des *Aspergillus*, il peut y avoir des entités différentes. A l'inverse, les travaux de Campbell (1972 et 1975) sur *Stachybotrys atra* et *Memnoniella echinata* montrent qu'une différence morphologique sensible entre deux organismes (conidies en têtes et en chaînes) recouvre deux ontogénies conidiennes comparables.

Dans un autre travail, nous avons analysé le mode de formation des phialoconidies en têtes de la forme asexuée de *Gnomonia leptostyla* (Roquebert et Fayret, 1981). Nous avons regroupé les données concernant les trois espèces étudiées dans le tableau 4.

Autour d'un schéma conidiogénétique commun (phialidique), nous voyons se différencier trois types d'organisation plus ou moins élaborées et adaptées aux fonctions proprement conidiennes. On ne saurait théoriquement exclure la possibilité d'un plus grand nombre de combinaisons autour de ce schéma conidiogénétique fondamental.

La similitude relative des mécanismes pariétaux *de la conidiogenèse phialidique et du développement végétatif* nous a conduite à une interprétation de la phialide différente de celle des autres chercheurs. La phialide est, pour nous, assimilable à un filament végétatif dont la croissance apicale cesse, à un moment donné, en un point désormais fixé au niveau duquel se succèdent repousses et septations. Le fonctionnement itératif du locus conidiogène, par la succession de cloisonnements qu'il implique, cause au niveau du col, un épaississement caractéristique de la paroi.

Source : MNHN, Paris

TABLEAU 4. — Comparaison des résultats concernant les modes de formation et de libération des conidies des *Aspergilus tamarii*, *Stilbothamnium nudipes* et *Gnomonia leptostyla*.

		A. tamarii	*S. nudipes*	*G. leptostyla*
Conidiogenèse	Mode de bourgeonnement	blastique répétitif	blastique répétitif	blastique répétitif
	Locus conidiogène	sub. septal (fixe)	sub. septal (fixe)	sub. septal (fixe)
	Mode de cloisonnement	hyphal	hyphal	hypal
Caractères variables	Clivage septal	différé	légèrement différé	immédiat
	Niveau du clivage	médian	médian	médian asymétrique
	Différenciation de la paroi sporale	tardive	précoce	précoce
	Structure de la paroi	différente	semblable	différente

Autour de ce schéma, toutes les variations de différenciation sont théoriquement possibles et conduisent à la formation de conidies plus ou moins différentes de la phialide (et du mycélium) par leur disposition et leur structure.

III. — MATURATION ET LIBÉRATION DES CONIDIES

La dispersion des spores mûres constitue une étape biologique fondamentale dans le cycle vital du champignon. Nous étudierons donc en détail dans ce chapitre la différenciation secondaire de la conidie, en revenant parfois, pour les préciser, sur quelques mécanismes décrits plus haut.

A. — MATURATION DES CONIDIES

L'appareil conidien de *Stilbothamnium nudipes* et celui de *Aspergillus tamarii* présentent une morphologie et un mode de conidiogenèse identiques.

Cependant, nous avons vu que, dans le premier cas, les conidies étaient disposées en chaînes fragiles tandis que celles de *Aspergillus tamarii* restent unies les unes aux autres par un connectif durable. L'analyse de l'évolution conidienne au sein de ces deux types de disposition caténée montre qu'elles correspondent, en réalité, à deux modes de maturation différents.

Stilbothamnium nudipes.

Les conidies successives peuvent se détacher et devenir indépendantes de la phialide très vite après leur individualisation, le plus souvent sous la poussée de la conidie sub-séquente.

L'observation des coupes au M.E.T. montre un clivage centripète précoce de la cloison suivi de la différenciation d'une pellicule externe A sur les faces médianes du septum (Pl. 16, fig. 6). La base de la conidie reste aplatie et présente, au M.E.B., un bourrelet circulaire qui résulte de la fracture de la couche externe C1 et entoure un plateau central légèrement bombé (Pl. 17, fig. 2 et 3). Ce dernier

Source : MNHN, Paris

est marqué en son centre par une sorte d'ombilic au niveau du pore (Pl. 17, fig. 4 et 5). Un bourrelet cicatriciel annulaire correspondant est porté par le sommet de la conidie sous-jacente.

Les conidies ont une morphologie asymétrique. Elles sont renflées à la partie supérieure où la paroi forme des ornementations profondes tandis que la partie basale, cylindrique et tronquée, ne présente que des verrucosités de faible amplitude (Pl. 17, fig. 1). A ce changement dans la profondeur de l'ornementation correspond une légère différence dans l'épaisseur de la paroi qui s'amincit sensiblement vers la base.

La paroi profonde (couche C) ne varie pas dans sa composition, du bourgeon conidien à la conidie mûre. Seule son épaisseur se trouve accrue. Les techniques de coloration utilisées ne mettent en évidence aucun constituant nouveau propre à la paroi conidienne et lui conférant un caractère original par rapport à la paroi phialidique ou hyphale. La similitude de composition pariétale et cytoplasmique constatée entre les hyphes végétatives (ou phialidiques) et les propagules, ainsi que l'absence de réserves métaboliques (glycogène, lipides) dans ces dernières, nous conduit à assimiler ce type de conidies à un fragment mycélien immédiatement détaché et apte à propager le champignon.

Aspergillus tamarii.

Nous allons voir que la disposition caténée des conidies d'*Aspergillus tamarii* relève d'une autre interprétation que celle de *Stilbothamnium nudipes*.

En effet, bien que d'ontogénie comparable, ces conidies subissent, secondairement, une maturation et une différenciation propres à leur fonction. L'analyse de la conidiogenèse nous a montré que les territoires cytoplasmiques conidiens sont séparés par des cloisons similaires, au début, à des septums hyphaux. Ces cloisons vont rapidement s'épaissir considérablement et acquérir une structure lamellaire qui se prolonge latéralement autour de la conidie (Pl. 18, fig. 1 et 2). Au contact du plasmalemme de celle-ci, on distingue une couche homogène C2 qui va peu à peu s'épaissir aux dépens de la couche lamellaire qui sera lysée graduellement (Pl. 18, fig. 1, 2). D'abord latérale et ponctuelle, cette lyse progresse peu à peu vers les extrémités de la conidie. La structure lamellaire persiste cependant dans les cloisons qui s'épaississent encore et forment ainsi le connectif à l'intérieur duquel subsiste un canal (Pl. 18, fig. 2) qui n'est autre qu'un pore étiré. La communication entre les cytoplasmes successifs est donc potentiellement continue.

Les résidus de la dégradation de la couche lamellaire dont l'existence n'a été que transitoire, s'accumulent sous forme d'amas irréguliers, limités par la pellicule externe (Pl. 18, fig. 1) qui constitueront les ornementations pariétales de la conidie.

Simultanément à cette dégradation extérieure se structure et se différencie, de l'intérieur, l'enveloppe conidienne définitive. Elle débute par l'établissement, dans la couche C2, de deux types de formations vésiculaires également sensibles au test de Thiéry : les unes plus ou moins sphériques, groupées à l'extérieur de replis du plasmalemme (Pl. 13, fig. 1) ; les autres, aplaties parallèlement à la surface de la membrane plasmique, parfois réunies entre elles par un liseré sombre (Pl. 13, fig. 4) peuvent être à l'origine de la fine strate observée à la base de l'enveloppe pariétale définitive.

Aux formations globuleuses du premier type (plasmalemmasomes), Marchant et Robards (1968) attribuent un rôle dans le transport de matériel pariétal pour la synthèse des parois « secondaires » chez les champignons.

Dans le cas de *Aspergillus tamarii*, leur disparition coïncide en effet avec la présence d'une nouvelle paroi conidienne nettement structurée. Celle-ci est finalement composée, de l'intérieur vers l'extérieur par : une très fine couche uniforme, lisse, polyssaccharidique, enfermant l'espace périplasmique, puis une couche fondamentale (endospore) issue de la couche originelle C2, sombre, d'aspect strié (Pl. 18, fig. 2 et 4) limitée vers l'extérieur par une mince zone foncée d'apparence rigide. Elle forme une sorte de coque homogène autour de la cellule conidienne. Recouvrant le tout d'une façon assez lâche, on observe enfin la pellicule externe repliée en digitations qui, finalement, semblent vidées de tout contenu résiduel de la couche lamellaire. Cette ultime pellicule se poursuit sur le connectif, assurant la cohésion prolongée des chaînes de spores mûres (Pl. 18, fig. 2). Notons enfin que, pour chaque spore, la différenciation s'effectue de façon basipète, la zone pariétale contiguë au connectif (Pl. 18,

Source : MNHN, Paris

fig. 2) n'étant atteinte que la dernière. Les étapes successives de la maturation du bourgeon sporal en conidie mûre se déroulent durant le temps de formation d'une chaîne de quatre conidies environ.

Les documents photographiques du microscope électronique ne nous ont pas permis de visualiser le moment de synthèse des pigments conidiens ni leur localisation exacte dans les parois sporales d'*Aspergillus tamarii* et *Stilbothamnium nudipes*. Les observations effectuées en microscopie photonique autorisent à penser qu'elle s'effectue dans des spores ayant déjà atteint un certain degré de maturation puisque les premières conidies d'une chaîne sont hyalines. La pigmentation progressive doit donc suivre la différenciation pariétale.

Chez ces deux champignons à conidies caténées, les spores sont, dans la plupart des cas, plurinuclées et nous avons, à plusieurs reprises, observé deux noyaux migrant simultanément dans l'ébauche conidienne, sans avoir pu localiser de figures de division dans le corps de la phialide.

La différenciation des parois dans le cas de *Aspergillus tamarii*, s'accompagne d'une accumulation de réserves métaboliques (glycogène et lipides) que l'on ne trouve pas chez *Stilbothamnium nudipes*.

B. — Libération des conidies

La libération des conidies est consécutive au clivage ou à la désagrégation du septum qui les sépare. Nous avons vu qu'elle pouvait s'effectuer dès la sortie de la phialide ou plus tardivement. Dans cette situation, les séries de conidies peuvent être soumises, en plus de la poussée provenant de la conidie suivante, à des pressions externes qui tendent à les dissocier plus ou moins rapidement selon l'état de résistance du connectif.

Chez *Stilbothamnium nudipes*, la séparation s'effectue au niveau du sillon médian, dans une zone de faiblesse naturelle. Elle peut donc résulter principalement d'une action mécanique.

La lente désagrégation du connectif des chaînes de *Aspergillus tamarii* semble résulter d'un processus quelque peu différent. Aux stades finaux, il peut y avoir une sorte de tension entre les conidies internes à paroi rigide et leur enveloppe connective plus ou moins désagrégée au cours de la maturation. Il paraît douteux que des substances enzymatiques, venues du cytoplasme, puissent traverser la coque sporale et gagner les couches externes connectives. Il s'agirait plutôt d'une autolyse des strates qui se trouvent séparées du cytoplasme et réduites à l'état résiduel. Le déséquilibre entre ce connectif désorganisé et la série de spores mûres, plus fermes, pourrait ainsi causer la cassure de la chaîne en réponse aux facteurs dissociants externes.

Discussion

L'étude comparée de la différenciation conidienne des deux champignons montre qu'à un type de conidiogenèse homologue, correspondent deux modes de libération et de maturation conidiennes : disposition catênée ou globuleuse, libération rapide ou différée des éléments de la chaîne et, enfin, maturation lente ou immédiate de la paroi conidienne (cf. tableau 4).

Dans le cas de *Stilbothamnium nudipes*, le clivage se produit par « schizolyse » (Hughes, 1971), c'est-à-dire par désagrégation progressive vers l'intérieur du sillon, de telle sorte que la moitié supérieure du septum forme la base de la conidie tandis que la moitié inférieure couvrira le sommet du bourgeon suivant.

Un tel mode de clivage est assez fréquent et a été décrit par Campbell (1972) ; Hammill (1972 et 1974) ; Ola'h et Reisinger (1974) et Hanlin (1976), chez plusieurs Hyphomycètes phialidés. Il débute dès la sortie du col de la phialide et devient complet au-delà de deux conidies. Hanlin (1976) et Ghiorse et Edwards (1977) décrivent un mode de séparation de ce type chez les *Aspergillus*, *clavatus* et *fumigatus*.

Pour *Aspergillus tamarii* comme pour les autres *Aspergillus* et *Penicillium* dont les chaînes présentent un connectif, il n'y a pas à proprement parler de clivage du septum mais plutôt un étirement et une désagrégation finale qui cause la libération des conidies.

Source : MNHN, Paris

Au cours de leur maturation, les conidies de *S. nudipes* ne subissent pas de modifications sensibles, au moins décelables microscopiquement. Ceci rejoint les observations de Ghorse (1973) sur *Aspergillus fumigatus*. A cette maturation quasi immédiate correspond une libération rapide.

Par contre, la persistance des chaînes d'*Aspergillus tamarii* s'accompagne d'un remaniement presque complet de la paroi conidienne et d'une évolution cytologique notable des réserves. On assiste à une véritable restructuration de la paroi. Fletcher (1971) a pu mettre en évidence une enveloppe néoformée dans le cas de trois *Penicillium* à chaînes persistantes (*P. clavigerum*, *P. claviforme* et *corymbiferum*), mais sans en analyser l'élaboration. D'assez nombreux travaux ont porté sur l'analyse de la paroi des *Aspergillus* (Mangenot et Reisinger, 1976 et Smith et al., 1976). Les résultats sont souvent divergents car ils portent sur une seule étape de la maturation sporale et ne tiennent pas compte de l'évolution progressive du matériel. Dans tous ces cas, l'analyse pariétale des conidies mûres conduit cependant à un dénombrement de strates voisin de celui que nous avons décrit pour *Aspergillus tamarii* : une pellicule externe, ou *ectospore*, formant des replis autour de la *périspore* d'origine résiduelle ou s'appliquant étroitement, par endroits, à l'*épispore*, formation relativement dense limitée vers l'intérieur par la très fine *endospore*. La périspore, de structure hétérogène, provient de la coucle Cli ; elle est d'épaisseur irrégulière et constitue les ornementations limitées par les replis de l'ectospore, homologue des couches externes A et B, tandis que l'épispore provient de C2.

Mangenot et Reisinger (1976) ont montré la labilité des formations extérieures (pellicule et zone sous pelliculaire) en milieu aqueux où elles peuvent aller jusqu'à disparaître complètement. La sensibilité des composants externes du mycélium végétatif, telle que nous l'avons mise en évidence par ailleurs (Roquebert, 1981), se retrouverait donc au niveau de la paroi conidienne. Avec ces auteurs nous pouvons conclure que, pour une espèce donnée, l'aspect de l'ornementation peut être sensible aux conditions d'hygrométrie du milieu.

En conclusion, l'analyse de la différenciation et du fonctionnement de l'appareil conidien, suivie chez *Aspergillus tamarii* et *Stilbothamnium nudipes*, met en évidence un ensemble de phénomènes qui caractérisent également l'appareil végétatif : croissance apicale, ramification et cloisonnement. La comparaison de l'évolution pariétale des deux appareils montre ainsi que, en réalité, *il n'existe pas, dans les exemples étudiés, de mécanisme propre à la morphogenèse conidienne.*

En outre, nous avons vu que tous les stades de morphogenèse végétative et reproductrice reposent, fondamentalement, chez les Hyphomycètes phialidés, *sur l'aptitude que possède une strate interne de la couche profonde C, à s'accroître vers l'extérieur ou l'intérieur de la cellule, indépendamment des couches externes.* Dans le cas d'une prolifération externe, la protubérance ainsi dégagée est d'abord enveloppée d'une paroi issue de l'extension de la partie interne de la couche C. Les composants A et B s'y reconstitueront et elle sera, à son tour, susceptible d'être le siège d'un clivage longitudinal analogue à celui qui lui a donné naissance.

La combinaison mutuelle des trois mécanismes de base (accroissement apical, septation et ramification) ou leur suppression, leur reprise, leur localisation, leur répétitivité constituent théoriquement une gamme potentielle très étendue de processus conidiogénétiques variés.

Les types de phialoconidiogenèse étudiés montrent que le phénomène se déroule suivant trois phases principales : genèse, libération et maturation de la conidie.

La genèse, au sens strict, correspond à l'extrusion d'un bourgeon cytoplasmique à partir d'une cellule distincte du mycélim végétatif qui la porte, et à son individuslisation par la formation d'une cloison. *L'élément ainsi délimité est d'abord peu différent d'un fragment hyphal.*

La continuité pariétale qui existe entre la phialide et la jeune conidie nous conduit à rejeter le terme de formation « de *novo* » appliqué exclusivement à la paroi des phialoconidies.

La composition symétrique du septum et la communauté d'origine entre l'enveloppe sporale et la paroi phialidique sont nettement visibles sur tous les documents.

La jeune conidie devient indépendante de la phialide par suite du clivage du septum. Cette séparation des lames septales ne se produit pas, normalement, dans le mycélium végétatif ; *elle constitue donc l'étape décisive, caractéristique de l'état conidien.* Nous rencontrons là, pour la première fois un mécanisme qui ne s'exprimait pas dans le mycélium végétatif.

Il s'agit d'un clivage symétrique dans le cas de *Stilbothamnium nudipes* et d'une désagréga-

Source : MNHN, Paris

tion sans clivage pour *Aspergillus tamorii*. Dans ce dernier cas, la persistance septale confère à la chaîne conidienne un aspect comparable à une hyphe mycélienne à l'intérieur de laquelle s'effectue la maturation conidienne, selon un processus basipète.

Une autre particularité distingue les cellules reproductrices de leurs homologues végétatives : *leur possibilité de bourgeonnement et de cloisonnement répétitifs en un même lieu. C'est précisément cette aptitude qui définit, pour nous, le mode de sporogenèse phialidique.* Elle détermine la formation de l'épaississement pariétal du col de la cellule, dont la structure lamellaire caractéristique résulte de l'apposition successive de nouvelles couches C latérales, au fur et à mesure que sont individualisées les conidies.

Nous avons vu que ce mode conidiogénétique précis est plus résistant que la morphologie du conidiome aux variations culturales (Roquebert et Fayret, 1981). La similitude d'architecture et de comportement pariétal entre les appareils végétatif et reproducteur suggère que les changements de structure mycélienne, en réponse au vieillissement ou à l'humidité élevée par exemple, peuvent se retrouver dans les rameaux fertiles et modifier ainsi la traduction morphogénétique de la fonction conidienne.

En résumé, la dynamique de la conidiogenèse phialidique ne diffère pas fondamentalement de celle d'une hyphe végétative et répond aux mêmes mécanismes cytologiques. Seule la répartition alternée, en un point fixé, du processus blastique et du cloisonnement peuvent caractériser la phase reproductrice phialidique. Sur le plan structural, la spore peut présenter des degrés de différenciation plus ou moins profonds ou précoces par rapport à la cellule dont elle est issue.

La plasticité des parois des Hyphomycètes, au plan structural comme au plan dynamique, apparaît donc comme un caractère fondamental du groupe, potentiellement très riche en modes de propagation et en morphologies variées.

Source : MNHN, Paris

TROISIÈME PARTIE

FORMATION DES CONIDIES EN CHAÎNES ACROPÈTES ET FONCTIONNEMENT DES CONIDIOPHORES À CROISSANCE INDÉTERMINÉE

Le fonctionnement itératif d'une phialide d'*Aspergillus* conduit à la formation d'une chaîne conidienne à développement basipète. La disposition caténée est fréquente chez les Hyphomycètes où elle peut cependant résulter de modes d'ontogénie différents : phialoconidies de *Penicillium*, *Aspergillus*, poroconidies d'*Alternaria*, arthroconidies méristématiques d'*Erysiphe*.

Afin de justifier l'application à la systématique de tels groupements SUBRAMANIAN en 1972 proposa de distinguer, selon leur composition, les « vraies » des « fausses » chaînes. Parmi les premières il place par exemple, les *Cladosporium*, *Acrosporium (Erysiphe)*, *Aspergillus*, *Amblyosporium* et *Memmoniella*. Résultant de conidiogenèses différentes, ces chaînes acropètes ou basipètes ont, selon l'auteur, la particularité commune de présenter une succession de conidies à plusieurs stades de développement et de maturité et qui conservent entre elles une certaine continuité pariétale. La vraie chaîne constitue pour lui un ensemble dont les éléments s'individualisent lentement. La fausse chaîne est toujours labile, constituée de propagules indépendantes superposées. Elle se rencontre essentiellement chez les annelidés et chez les phialidés, tous deux à conidiogenèse toujours basipète (*Gliocladium*, *Paecilomyces*, *Mariannea*, une partie des *Aspergillus*). Ainsi, l'un ou l'autre des deux types de chaînes peuvent, selon les genres et même les espèces, résulter d'une conidiogenèse phialidique.

Cependant, la distinction entre vraies et fausses chaînes devait, à la suite d'observations approfondies, être remise en question. CAMPBELL (1975, a) a pu révéler l'absence de différences structurales entre les fragiles chaînes conidiennes de *Memnoniella echinata* (vraies chaînes *sensu* SUBRAMANIAN) et les têtes globuleuses de *Stachybotrys atra*. Par ailleurs, au sein du même groupe *Aspergillus* coexistent, comme nous l'avons montré dans les pages précédentes, au moins deux types de composition des chaînes : simple juxtaposition dans le cas d'*Aspergillus fumigatus* (GHIORSE et EDWARDS, 1973) et *Stilbothamnium nudipes*, ou maturation lente et union par un connectif durable pour *A. tamarii* et *A. niger* (TANAKA ET YANAGITA, 1963).

En réalité, notre étude a montré que la notion de continuité pariétale prolongée entre les conidies de la chaîne paraît un caractère descriptif valable. Nous adoptons volontiers la séparation que propose GAMS (1978) pour les phialo-conidies en « connected chains » à connectif persistant (caractéristique des Trichomaceae Fischer *sensu* MALLOCH et CAIN (1972)) et « disconnected chains », formes conidiennes des Hypocreaceae, Sphaeriaceae et Chaetomiaceae. Cette distinction est étayée non seulement par la nature des composants des chaînes mais par leur correspondance téléomorphique.

Il nous semble par contre plus difficile de regrouper dans un même ensemble, des chaînes de phialoconidies émises en succession basipète, telles que celle des *Aspergillus*, et les blastoconidies bourgeonnées de façon acropète de *Cladosporium* par exemple.

La notion de polarité d'accroissement de la chaîne constitue sans aucun doute un élément fondamental dans la compréhension de la conidiogenèse et son utilisation à des fins systématiques.

Source : MNHN, Paris

Outre l'intérêt d'une étude comparée des chaînes à développement acropète et basipète, nous avons pu ainsi aborder la question de la genèse *entéro-* et *holoblastique*. En effet, ces termes proposés par KENDRICK (1971), constituent aujourd'hui la coupure fondamentale généralement acceptée et utilisée par les spécialistes des Hyphomycètes. Selon les recommandations du Congrès de KANANASKIS (KENDRICK, 1971), « lorsque les couches externes de la paroi des cellules sporogènes ne participent pas à l'édification de la paroi sporale, la conidiogenèse est dite entéroblastique. Par contre, si l'intégralité de la paroi de la cellule sporogène est impliquée dans la formation de la paroi sporale, la conidiogenèse est dite holoblastique ».

Après l'analyse du comportement pariétal lors de la conidiogenèse phialidique (dite entéroblastique) à locus conidiogène fixe, nous aborderons donc, dans cette partie de notre étude, les mécanismes qui conduisent à la formation d'une chaîne conidienne acropète dite holoblastique, à locus conidiogène mobile.

Nous avons donc entrepris, dans la troisième partie de ce travail, l'analyse des modalités du fonctionnement conidiogène chez deux espèces de *Clasdosporium*.

A. — DÉFINITION DU GENRE *Cladosporium* LINK EX FR.

Les *Cladosporium*, genre très vaste et cosmopolite, sont définis par leur mode de multiplication conidienne blastique ; par ailleurs, le conidiophore peut proliférer pendant la formation des conidies successives.

Leur grande diversité de forme, de taille et d'ornementation sporales ainsi que leur polyphagie expliquent la difficulté de cerner, de manière précise, les caractères du groupe jusqu'à la publication de la monographie de DE VRIES en 1952.

Un court rappel historique, en permettant de suivre l'évolution de la conception du genre, met en évidence les aspects morphologiques et les diverses phases du développement qui ont successivement permis de la caractériser.

La diagnose originale donnée par LINK en 1816 (*C. herbarum*), faisait état d'un « thalle dressé, simple ou ramifié, se transformant en conidies par l'apex ». FRIES (1829) devait préciser la disposition relative des « sporidies » entre elles, « en chaînes disposées comme des branches dont les articles se transforment ensuite en sporidies simples ». En 1850, FRESENIUS décrivait un nouveau champignon : *Penicillium cladosporioides* dont il soulignait la ressemblance avec *Cladosporium herbarum* Link « conidiophores non ramifiés ou avec une branche en dessous de l'apex sporulant, bruns, irrégulièrement cloisonnés, dressés, portant à l'apex une ou plusieurs cellules allongées au sommet desquelles sont situées, à leur tour, des chaînes de spores ramifiées dichotomiquement. Les cellules les plus longues présentent quelquefois un septum ». Le nom de *Penicillium* donné à ce champignon montre que l'auteur centre son observation, non sur la formation apicale des conidies, mais sur le mode de ramification des chaînes et sur la présence de cellules basales allongées, parfois cloisonnées, portées par le sommet du conidiophore. A ces dernières il a parfois été donné le nom de *sterigmata*.

Avec la pratique des cultures de champignon (1860 environ), l'analyse méthodique du fonctionnement conidiogène et de maturation des spores devait conduire à une interprétation plus précise de l'appareil conidien des *Cladosporium*. LOEW (1869) décrit très clairement la morphologie et le développement de l'espèce de FRESENIUS actuellement connue sous le nom de *Cladosporium cladosporioides*. En 1894, JANCZEWSKI attire l'attention sur la morphologie particulière du conidiophore de *Cladosporium herbarum* qui continue de s'accroître après l'émission de chaque spore et prend ainsi un aspect caractéristique, en sympode. Ainsi, au cours du temps, les caractères morphologiques et conidiogénétiques des *Cladosporium* ont été observés successivement. De VRIES (*loc. cit.*) tient compte de tous ces éléments pour établir une diagnose précise du genre qui met en évidence la formation des conidies par bourgeonnements successifs produisant des chaînes ramifiées « au sommet géniculé ou noduleux du conidiophore ».

La méthodologie actuelle appliquée à la description du conidiome conduit ELLIS (1971) à compléter la diagnose fondamentale par des indications concernant la genèse des conidies à partir du coni-

Source : MNHN, Paris

diophore. Il considère les cellules conidiogènes comme *polyblastiques*, c'est-à-dire capables de donner, en plusieurs points, par bourgeonnement, des conidies dont la paroi est continue avec leur propre paroi (*holoblastiques*). Dans cette conception moderne de la systématique du genre, la formation acropète des conidies n'est plus que secondairement évoquée par le qualificatif « d'acropleurogène » introduit par De Vries.

Il nous paraît que l'aptitude des *Cladosporium* à donner des conidies simultanément à plusieurs niveaux, par le jeu du bourgeonnement acropleurogène et, éventuellement, de l'accroissement sympodial du conidiophore, est un fait intéressant. Cette faculté se rencontre dans d'autres genres de champignons (*Alternaria*, *Ulocladium* etc...). La pluralité des loci conidiogènes et leur mobilité contrastent avec la stabilité observée dans les phialides d'*Aspergillus*.

Nous nous proposons donc d'observer les étapes successives de ces deux phases de la conidiogenèse dont nous comparerons les mécanismes entre eux, et avec les résultats précédents.

B. — Observation des phases conidiogènes

1) *Observation en microscopie photonique.*

Observées en culture, les deux souches de *Cladosporium* : *C. herbarum* et *C. cladosporioides* offrent un aspect et une vitesse de croissance tout à fait comparables.

Sur Malt-Agar à 1,5 % elles ont un développement modéré puisque les colonies atteignent environ 3 à 4 centimètres au bout de 10 jours de culture. Elles ont un aspect homogène, velouté, une texture serrée et sporulent uniformément sur toute la surface, la marge mycélienne végétative périphérique n'occupant qu'une étroite zone de 1 à 2 mm. Elles sont de couleur vert olive à brun-vert avec un revers noirâtre. Le feutrage de mycélium aérien qui caractérise la plupart des souches de *C. herbarum*, n'apparaît pas dans ce clone.

Les premières figures de sporulation apparaissent après 36 heures environ de développement végétatif de l'inoculum.

A ce stade, les filaments fertiles ne sont pas, optiquement, différents de l'hyphe qui les porte et dont ils sont séparés par une cloison. Une septation intercalaire y délimite une cellule apicale sporogène et une cellule basale. Une première conidie allongée se forme à l'apex et exprime le caractère fertile de cette hyphe. Soixante minutes plus tard, une repousse latérale prend naissance juste en dessous de la spore axiale. Elle progresse et s'élargit elle-même en ébauche sporale nettement distincte au bout de 1 heure à 1 heure et demie. Dans le même temps, une deuxième conidie s'est formée au sommet de la première.

Le bourgeonnement latéral du conidiophore précède, chez *Cladosporium cladosporioides*, la formation des conidies de deuxième ordre.

Nous avons vu qu'en conditions de culture aérées, un développement végétatif de 36 heures précédait la formation des premiers éléments fertiles. En chambre humide, l'observation des premiers stades de développement d'une culture de *Cladosporium cladosporioides* montre que la sporulation autour d'un implantat massif débute précocement, à peine 24 heures après la mise en incubation, sans développement végétatif visible. On distingue ensuite, immédiatement autour de l'inoculum, des conidiophores nettement différenciés portant une arborescence terminale formée de chaînes de 3 à 4 conidies.

D'autre part, un ensemencement par suspension de spores en milieu liquide montre que celles-ci sont capables, en germant, de redonner directement soit une ou plusieurs spores filles, d'aspect levuroïde (Pl. 20, fig. 5 et 6), soit un conidiophore court porteur de chaînes conidiennes plus ou moins ramifiées. Une morphologie normale, c'est-à-dire avec mycélium végétatif porteur de conidiophores, se rétablit cependant après quelques jours de développement.

Les variations de conditions de culture peuvent donc entraîner des modifications dans le déroulement du cycle conidiogène de *Cladosporium cladosporioides*, la phase mycélienne végétative se trouvant, dans certains cas, considérablement réduite et parfois même supprimée. Cette sensibilité aux

Source : MNHN, Paris

conditions externes souligne la plasticité morphologique et fonctionnelle de ces organismes en réponse à des environnements divers. Le terme extrême de réduction du mycélium est une phase levuriforme qui suggère une similitude entre le développement blastique des conidies de *Cladosporium* et le bourgeonnement des Levures.

La connaissance de ces formes culturales ajoutée aux variations de structure externe des parois selon l'hygrométrie du milieu, nous a conduite à n'utiliser, pour l'étude ultrastructurale, que du matériel frais, directement prélevé sur l'hôte. En observant ainsi le champignon dans ses conditions naturelles de développement, nous pensons obtenir des documents qui reflètent, au plus près, la réalité biologique.

2) *Observation en microscopie électronique.*

a) *Conidiogenèse acropète.*

La formation acropète des conidies de *Cladosporium* suppose qu'elles prennent naissance à partir de cellules conidiennes jeunes, donc à paroi faiblement différenciée. La première conidie formée à l'apex du conidiophore a une enveloppe pariétale où l'on retrouve les composants fondamentaux précédemment décrits. La couche profonde C est hyaline et homogène, d'épaisseur et de profil uniformes. Vers l'extérieur, elle est bordée par une couche B dématiée plus mince ne présentant que de légères aspérités de surface, peu marquées, parfois nulles. L'ensemble est limité par la pellicule externe A.

La conidie suivante s'ébauche à la faveur d'un affaiblissement local de la paroi, suivi d'un étirement des composants pariétaux situés à l'endroit du bourgeonnement.

Nous avons pu observer les premiers stades de la poussée du bourgeon conidien (Pl. 19, fig. 2 à 5) : le cytoplasme et le plamalemme qui l'entoure forment une boursouflure latérale recouverte de la couche profonde qui s'amincit par étirement. Les couches externes mélanisées sont rompues et s'écartent sous l'effet de cette poussée (Pl. 19, fig. 5). La partie de la couche profonde ainsi dénudée est presque immédiatement protégée par la reconstitution d'une mince couche externe mélanisée. Cette reconstitution extrêmement rapide des composants externes, explique l'apparente continuité pariétale observée entre les conidies-mère et fille (Pl. 19, fig. 3 et 4). Seul un amincissement sensible de l'ensemble, localisé entre deux éléments conidiens au point d'émergence de la cellule-fille, traduit la nature endogène de cette formation.

Au fur et à mesure qu'elle se développe, les organites cytoplasmiques y migrent et l'ébauche conidienne acquiert une paroi complète, ornementée (Pl. 19, fig. 4).

Lorsqu'elle a atteint la taille et la structure d'une conidie adulte, elle est individualisée par une cloison qui s'effectue dans la zone amincie entre les deux éléments sporaux. Il s'agit d'un septum perforé typique à deux couches symétriques dont l'évolution et la structure déterminent le comportement ultérieur des éléments ainsi séparés. Une mélanisation précoce et intense de ces deux lames constitue le phénomène caractéristique de cette évolution. Elle se produit non seulement dans la zone contiguë au sillon médian mais gagne latéralement vers les corps cellulaires le long de la strate pariétale interne C1. Ainsi se forment deux cupules symétriques, opposées, appliquées d'une part à la base de la conidie-fille et d'autre part au sommet de la conidie-mère. L'hétérogénéité structurale du septum que cause cette mélanisation profonde entraîne une désintégration rapide des composants externes qui explique la fragilité des chaînes de *Cladosporium*.

Avec l'âge de la conidie, l'ornementation sporale évolue, surtout chez *Cladosporium herbarum*. (Pl. 23, fig. 2). Entre la couche profonde hyaline C2 et les couches externes A et B se distingue une nouvelle strate pigmentée de façon hétérogène, séparée de l'enveloppe externe par une strate plus claire C1. La couche externe B, densément mélanisée, émet des protubérances en forme d'épines distinctes, dont l'épaisseur va jusqu'à 500 Å, enveloppées par la pellicule externe.

Nous assistons à un type de différenciation pariétale comparable à celui que nous avons rencontré chez *Aspergillus tamarii* : une nouvelle strate protectrice homogène, l'*endospore*, se différencie à partir de la couche profonde, repoussant vers l'extérieur les constituants de la paroi primaire : la strate C1, hyaline, uniforme et B et A qui constituent les ornementations.

Source : MNHN, Paris

Une différence d'amplitude dans l'ornementation sporale peut être observée sur une même ramo-conidie (Pl. 21, fig. 2). Nous avons pu, en effet, y distinguer une partie apicale presque lisse et une partie basale séparée par une cloison, fortement ornementée. En milieu liquide enfin, l'ornementation s'estompe par suite du gonflement de la couche externe mélanisée (Pl. 23, fig. 4).

L'autonomie complète et précoce des conidies de *Cladosporium* contraste avec la longue dépendance et la maturation lente des conidies en chaînes basipètes d'*Aspergillus tamarii*. Nous sommes tentée d'y voir une relation avec l'aptitude conidiogénétique que possède chaque conidie qui fonctionne, ici, pour son propre compte, indépendamment de toute relation avec la cellule conidiogène initiale.

La différenciation et la pigmentation rapides des lames septales et de leurs prolongements latéraux ainsi que la fermeture par un corps de Woronine semblent faire de chaque compartiment ainsi isolé un élément indépendant coupé de toute relation avec la cellule dont il provient. Cette barrière apicale peut expliquer en partie la déviation latérale du sens d'accroissement du conidiophore.

Les conidies de *Cladosporium herbarum* et *cladosporioides* ont régulièrement un seul noyau central par cellule. Elles possèdent des réserves de glycogène et de lipides en abondance ; ces dernières sont surtout localisées aux extrémités des cellules.

Comme leur mode de formation le laisse présager, les conidies apicales présentent une seule cicatrice tandis que les autres en ont une à chaque extrémité. Certaines conidies (ramo-conidies), à la base de la chaîne, sont nettement plus allongées que leurs homologues. Elles sont alors souvent cloisonnées et portent deux cicatrices apicales. L'observation de ces dernières montre qu'elles se situent à deux niveaux différents, les constituants de la seconde (Pl. 21, fig. 2) se trouvant en continuité avec une strate interne de la couche inférieure du septum qui la précède.

La rapidité d'édification des composants externes de la nouvelle paroi est tout à fait caractéristique du type de conidiogenèse blastique.

b) *Fonctionnement des conidiophores.*

Cladosporium herbarum.

Les conidiophores de *C. herbarum* sont des filaments dressés, cloisonnés et mélanisés. Leur paroi, dans les parties jeunes situées vers l'apex, ne diffère pas sensiblement de celle des hyphes dématiées ; on y retrouve les strates constitutives A, B et C. La mélanisation y reste limitée aux couches externes A et B (Pl. 21, fig. 1).

Dans les parties âgées, par contre, on assiste à une progression considérable de la pigmentation dans la couche profonde C. Celle-ci est peu à peu envahie par des granules mélaniques dont la densité décroît vers le cytoplasme cellulaire. Leur répartition le long des fibres longitudinales constitutives souligne la disposition relative des strates pariétales (Pl. 22).

Une strate byaline relativement mince persiste toujours entre les enveloppes externes pigmentées, A, B et C1 et le plasmalemme. Elle participe à la formation des cloisons internes qui restent apigmentées, à l'exception de quelques corpuscules mélaniques au niveau du sillon médian. L'établissement d'une cloison, en position sub-apicale, détermine la formation d'une cellule terminale au niveau de laquelle s'effectue la conidiogenèse.

Le sommet de cette cellule, comme tout apex en voie de croissance, possède une paroi faiblement mélanisée relativement plastique, que la protubérance cytoplasmique repoussera sans peine (Pl. 21, fig. 1). Au cours de ce mouvement vers l'extérieur du corps cellulaire, l'ébauche conidienne est entourée d'une enveloppe pariétale en continuité avec la couche C et dont les composants externes propres se reconstituent rapidement (Pl. 21, fig. 1). La conidie est ensuite individualisée par un septum typique à deux couches symétriques. Celles-ci seront mélanisées dans leurs strates contiguës au sillon médian et formeront deux cupules opposées visibles, d'une part sur le conidiophore, et d'autre part à la base de la conidie. A la libération de celle-ci, les bords des cupules s'appliquent contre les composants pariétaux à la limite du septum et les doublent intérieurement sur une certaine longueur (Pl. 21, fig. 1).

Source : MNHN, Paris

Le détachement de la spore laisse voir, au sommet du conidiophore, un épaississement annulaire entourant un plateau lisse, légèrement bombé, percé en son centre par l'orifice septal (Pl. 21, fig. 1 et Pl. 20, fig. 2). L'observation des coupes à ce niveau montre que les composants de l'anneau sont en continuité avec les couches externes A et B de la paroi du conidiophore, tandis que le plateau central, couche inférieure du septum, s'insinue latéralement dans la couche profonde. Un corps de Woronine obstrue le pore de la cloison. Une cicatrice symétrique s'observe à la base de la conidie. Ce cloisonnement, ontogéniquement comparable à celui que nous avons décrit lors de la conidiogenèse phialidique, ne se renouvellera pas en ce lieu.

Après l'émission de la conidie apicale, le sommet du filament étant obturé par la partie inférieure de la cloison conidienne, l'activité méristématique se déplace latéralement et développe un nouvel apex. En effet, dans le cas de *Cladosporium herbarum*, la reprise de croissance de la cellule conidiogène va s'effectuer non pas dans l'axe de la première conidie, mais latéralement. Nous supposons que, au sommet du conidiophore, la barrière constituée par la cupule septale épaisse et mélanisée, dont le pore est obturé, constitue un obstacle à la progression axiale percurrente. Celle-ci peut alors se faire en un point où la paroi, relativement moins différenciée, offre une résistance moindre aux actions enzymatiques préliminaires à la reprise d'activité. Les zones latérales immédiatement en retrait de l'apex ont cette propriété. D'abord horizontale (Pl. 21, fig. 1), la repousse tend à devenir verticale, rejetant sur le côté les vestiges de la conidiogenèse précédente.

Nous avons pu observer que la paroi du nouvel apex latéral est un prolongement de la couche basale, hyaline, du septum conidien d'une part et de la paroi latérale du conidiophore d'autre part (Pl. 21, fig. 1). Nous retrouvons ici le même type de formation latérale que celui que nous avons décrit chez *Penicilliopsis dichotomus*.

La mélanisation qui accompagne la formation des strates pariétales dans le conidiophore âgé, en souligne la disposition relative et nous a ainsi permis d'en étudier la dynamique.

L'observation des photos (Pl. 22, fig. 1, 2 et 3) révèle clairement le développement de ces couches endogènes superposées avec, au niveau de chaque cicatrice d'insertion conidienne, la rupture des strates externes mélanisées. Elles sont d'un côté étirées dans le sens de la repousse latérale (Pl. 22, fig. 3) et, de l'autre, nettement fracturées par la désagrégation du septum. On retrouve, au centre de la cicatrice, la cupule septale dématiée entourée des lèvres des couches A et B formant le bourrelet cicatriciel circulaire. En se développant vers l'extérieur, la strate pariétale du nouvel apex, en continuité avec la couche hyaline profonde acquiert la fonction de paroi externe du conidiophore. Elle est, à son tour, mélanisée et sera, après un certain temps d'accroissement, fracturée au niveau d'une nouvelle formation conidienne (fig. 13).

La plasticité des strates pariétales internes, leur aptitude à la différenciation est ici particulièrement mise en évidence. Ces propriétés semblent se perpétuer, au moins dans les zones apicales du conidiophore où l'on observe ainsi trois à quatre repousses successives (Pl. 20, fig. 1 et Pl. 22, fig. 1).

A chaque phase de genèse conidienne succède une phase de croissance apicale « végétative ». La paroi du conidiophore provient alors, par délaminations successives étagées, de la cellule sporogène précédente. Les zones conidiogènes successives sont généralement délimitées à la base par une cloison qui définit chaque fois la cellule sporogène apicale.

Cladosporium cladosporioides.

Les conidiophores de notre souche de *C. cladosporioides* sont beaucoup plus courts que ceux de *Cladosporium herbarum* (Pl. 20, fig. 3). La pigmentation des parois est moins profonde. Chez cette espèce où la zone conidiogénétique est limitée à l'apex du filament fertile qui, dès lors, cesse de s'accroître, nous avons pu observer deux à trois cicatrices apicales groupées (Pl. 20, fig. 3 et Pl. 19, fig. 1). Chacune, résultant d'un cloisonnement conidien analogue, montre la même anatomie que celles de *Cladosporium herbarum*. La rupture de la paroi du conidiophore cause la même formation en bourrelet annulaire à l'intérieur duquel s'applique la cupule septale dématiée et fermée par un corps de Woronine.

En raison du faible nombre de points conidiogénétiques et de leur groupement sur un espace restreint, nous n'avons pu suivre avec précision le devenir des strates pariétales endogènes comme

Source : MNHN, Paris

nous l'avons fait pour *Cladosporium herbarum*. Cependant, les différences de niveau entre les strates externes, d'une cicatrice à l'autre, autorisent à penser qu'il s'agit du même type de stratification par différenciation interne successive (Pl. 19, fig. 1).

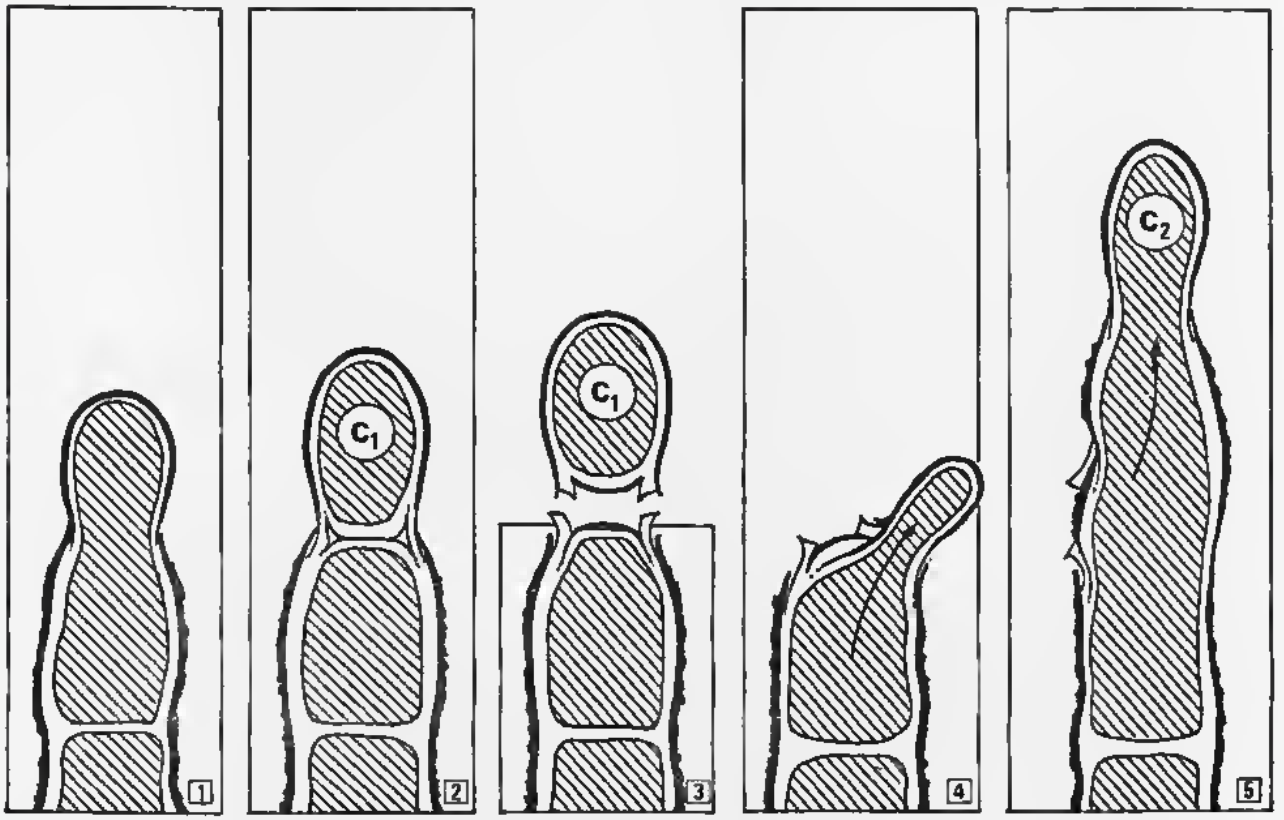


FIG. 13. — Conidiogenèse et accroissement du conidiophore de *Cladosporium herbarum*.
1 : Formation d'une ébauche conidienne à l'apex du filament fertile ; 2 : Individualisation d'une conidie C1 par une cloison symétrique à deux couches ; 3 : Rupture des composants latéraux du septum et libération de la conidie ; 4 : Reprise de l'accroissement du conidiophore. La paroi du nouvel apex est le prolongement d'une couche interne de la lame inférieure du septum de C1. 5 : Formation d'une nouvelle conidie apicale C2.

En résumé, l'activité conidiogénétique des *Cladosporium* s'effectue dans des régions (conidiophore ou conidie) où la paroi est encore peu différenciée : à l'apex d'une cellule sporogène ou à partir d'une conidie terminale jeune. Cette localisation permet un développement du bourgeon conidien sans rupture de la paroi préexistante mais par étirement, sous l'effet de la poussée cytoplasmique endogène. Dans une situation apicale comparable, nous avons observé ce type de bourgeonnement lors de la formation des premières spores au sommet des phialides d'*Aspergillus tamarii*.

DISCUSSION

1) *Prolifération sympodiale.*

A la différence de ce que nous avons rapporté pour l'accroissement basauxique des conidiophores d'*Aspergillus*, l'installation de la conidiogenèse au sommet d'un filament fertile de *Cladosporium* n'exclut pas sa prolifération.

Source : MNHN, Paris

D'une façon générale, l'expression de ces deux activités peut, selon leur chronologie respective et leur direction, conduire à des morphologies diverses du *conidiophore*. Un allongement latéral sensible entre deux cicatrices conduit à la formation d'un élément en zig-zag ou *sympode*, où les zones végétatives et conidiogènes sont nettement distinctes ; à l'opposé, un accroissement limité où les lieux de bourgeonnement sont rapprochés, peut causer un renflement terminal plus ou moins noduleux (Hughes, 1953 et Kendrick, 1971). Dans tous les cas, la repousse est consécutive à la formation d'une cloison à la base de la conidie précédemment formée. Elle s'effectue à travers la paroi latérale du conidiophore selon le même mécanisme que les ramifications hyphales ou les verticilles de phialides. Des formations sympodiales hyalines, du type *Tritirachium roseum* ou *Pleiochela setosa*, ont été respectivement étudiées par Hammill (1973) et Harvey (1974). Ce dernier auteur suggère un mode de prolifération latérale accompagné de synthèse, *de novo*, de matériel qui se surajoute au septum conidien d'une part et à l'intérieur de l'enveloppe latérale du conidiophore, d'autre part. Les figures de différenciation que l'on observe sur les documents de Harvey sont cependant analogues à celles que nous avons décrites pour *Cladosporium herbarum*. Un processus de prolifération comparable peut être observé chez *Chloridium chlamydosporis* sans que l'auteur (Hammill, 1972, b) interprète les relations des parois entre elles. Dans ce dernier cas, la rupture apicale de la paroi externe de la phialide lors de la formation de la première conidie laisse une collerette à l'intérieur de laquelle se développe un court élément sympodial. Après une période de conidiogenèse, l'accroissement du conidiophore peut reprendre de manière percurrente à travers la collerette terminale. De même, chez certains champignons, l'accroissement de ce filament peut s'effectuer, non plus latéralement par rapport à la cloison conidienne apicale, mais de façon axiale, percurrente sans rupture de la paroi latérale du conidiophore. La repousse prend naissance à l'intérieur de celui-ci, au niveau d'une cloison située bien en retrait de l'apex fertile (Hammill, 1972, c). Chez *Acrogenospora sphaerocephala*, on observe une véritable « hyphe endophyale » dont l'accroissement s'effectue à travers la cicatrice apicale de la première conidie. La succession de ces repousses internes se traduit sur les documents photographiques, par une disposition concentrique d'enveloppes internes mélanisées, légèrement décalées les unes par rapport aux autres, la plus récente se formant au niveau le plus élevé. Comme nous l'avons mentionné pour l'espèce dématiée *Cladosporium herbarum*, l'aptitude à la pigmentation des strates internes d'*Acrogenospora sphaerocephala* souligne la disposition relative des formations endogènes.

Dans tous ces exemples de repousses du conidiophore, sympodiales ou percurrentes, la couche inférieure du septum conidien a un rôle passif. Elle s'intègre à la paroi du conidiophore, est rejetée de côté avec elle ou est déchirée par la repousse et ne participe donc pas à l'élaboration de la conidie suivante. Il n'en est pas de même dans tous les types d'accroissements percurrents Dans le cas des annellides, par exemple, la paroi de la repousse axiale est d'abord constituée par la couche inférieure de la cloison conidienne. Elle se développe par la suite vers la base et l'on observe au niveau des annellations mélanisées de *Spilocea pomi*, par exemple (Reisinger, 1972 ; Hammill, 1973 ; Corlett et al., 1976), la superposition étagée d'enveloppes successives fibrillaires, dématiées, qui caractérise maintenant pour nous ce type de prolifération. Précisons cependant que, dans le cas des annellophores, l'extension de la repousse axiale reste de faible amplitude.

2) *Conidiogenèse et différenciation des parois.*

La *conidiogenèse* des *Cladosporium* s'effectue à partir d'une paroi faiblement différenciée. En effet, chez les champignons mélanisés, la pigmentation peut, en quelque sorte, servir d'indicateur de différenciation. A l'apex des cellules conidiogènes de *Cladosporium herbarum*, la mélanisation étant limitée à une fine strate externe, nous pouvons en déduire que la protrusion du bourgeon conidien s'effectuera sans rupture profonde de la paroi. Un tel processus a été observé par Ellis et Griffiths (1975, a) chez *Torula herbarum*. Malgré la continuité structurale, on observe, d'une façon générale, au cours de la conidiogenèse blastique un « rétrécissement » au point de jonction entre l'élément générateur et la conidie en formation. Nous interprétons cette figure caractéristique comme le résultat de l'arrêt temporaire de la croissance apicale de l'hyphe fertile, suivie d'une reprise du développement à partir d'une étroite zone apicale, à nouveau active, en vue de former le bourgeon ; la croissance

Source : MNHN, Paris

conidienne prend en quelque sorte le relai de la croissance végétative. Le temps de latence entre les deux phénomènes est suffisamment court (4 heures selon Carroll, 1972) pour que les composants sub-apicaux ne soient pas profondément différenciés et conservent une certaine plasticité. Il apparaît ainsi que, quand la succession entre les deux modes d'accroissement (végétatif et conidien) est rapide, tout bourgeonnement apical peut entraîner l'étirement de l'ensemble des composants sub-apicaux de la paroi du conidiophore. Ce fait explique le caractère « holoblastique » des conidies porosporées de *Stemphylium botryosum* mis en évidence sur culture par Carroll en 1972 ou d'*Helminthosporium maydis* par Brotzman et al. (1975), en contradiction avec les données résultant de l'observation de matériel naturel mûr, conluant à leur formation entéroblastique au travers d'une paroi déjà plus différenciée et rigide. Seule, une observation des stades successifs de la genèse conidienne en fonction de l'état indifférencié ou adulte du filament générateur a permis aux auteurs d'analyser la nature exacte des relations pariétales au cours de l'ontogénie sporale. La progression rapide de la mélanisation des parois peut créer des modifications secondaires (Campbell, 1968 ; Carroll et Carroll, 1974, b) ; Ellis et Griffiths, 1975, b)) qui ne reflètent pas exactement les premiers stades de l'ontogénie. Dans le cas des porosporés, le pertuis hyalin souligné d'un disque sombre que l'on observe dans la paroi dématiée au point d'attache des conidies, interprété généralement comme une formation lytique préliminaire à la conidiogenèse, apparaît plutôt comme le résultat d'une transformation de la paroi (mélanisation) postérieure à l'émission conidienne. Si ce caractère peut être valablement utilisé sur le plan morphologique on ne saurait, par contre, attribuer à ce dispositif une valeur ontogénique particulière. Un véritable pore, résultant d'une action enzymatique lytique ponctuelle, précédant la conidiogenèse ne saurait être observé, selon nos conclusions, que dans des exemples de genèse conidienne non apicale.

L'holoblastie est donc pour nous une conséquence directe de la situation apicale de la genèse conidienne mais ne caractérise pas un mécanisme pariétal propre à certains groupes de champignons.

La dépendance entre le mode de bourgeonnement et l'état de différenciation des parois se retrouve dans la formation successive des conidies en chaînes acropètes. Des observations réalisées sur la même souche de *Cladosporium cladosporioides* nous ont permis de conclure que, selon l'état de maturation des parois conidiennes, le bourgeonnement secondaire cause une rupture plus ou moins profonde, qui peut aller du simple étirement à une véritable déchirure des couches externes.

L'ontogénie des conidies et leur disposition relative offre des analogies avec le bourgeonnement et la formation de pseudo-mycélium de *Candida albicans* étudié par Scherwitz et al. (1978). La formation endogène de la paroi du bourgeon sporal et sa continuité avec les strates constitutives profondes de la paroi de la cellule-mère y sont clairement mises en évidence. Les cicatrices septales à la surface de cette dernière, bien que non pigmentées, montrent une structure analogue à celle des *Cladosporium*. Chez les Levures, la discussion concernant la participation des composants de la paroi au bourgeonnement secondaire reste ouverte, certaines observations suggérant une « néoformation » à l'intérieur de la cellule-mère (*Rhodotorula glutinis*, Marchant et Smith, 1967) tandis que d'autres, portant sur *Saccharomyces cerevisiae* et rapportées par les mêmes auteurs en 1968, traduisent une continuité intégrale entre les deux éléments cellulaires. Cependant les résultats des études cytochimiques récentes réalisées par Poulain et al. (1978) sur l'évolution de la nature des composants pariétaux externes de *Candida albicaas* en fonction de l'âge et des conditions de culture du champignon, autorisent à prévoir une interprétation générale du processus de bourgeonnement qui tiendrait compte de l'évolution pariétale au cours de la maturation des conidies-mères.

L'analogie de structure du mode de bourgeonnement conidien entre les formes levure et les *Cladosporium* est biologiquement étayée par la tendance que nous avons observée chez ces derniers, à raccourcir, voire même supprimer, la phase mycélienne en milieu liquide. Cette aptitude, déjà rapportée par Reisinger (1972) pour les blastospores de *Dendryphiella vinosa* se retrouve chez les *Rhinocladiella* par exemple, champignons de morphologie instable caractérisée par la multiplicité des types de conidiogenèse au sein d'une même culture. Il semble donc que les conidies de *Cladosporium* détachées de leur support végétatif conservent une aptitude au bourgeonnement qui leur est propre. Cette dernière observation nous conduit à aborder enfin le problème de la formation acropète des chaînes conidiennes.

Source : MNHN, Paris

3) *Conidiogenèse en chaîne et caractères du septum.*

L'observation détaillée des deux types de formation caténées, basipète et acropète, nous a révélé un certain nombre de faits particuliers qui semblent accompagner, s'ils ne la conditionnent pas, telle ou telle disposition conidienne.

Le septum basal des phialoconidies des Aspergillales étudiées, est de type hyphal. S'il subit une différenciation, celle-ci se produit dans la chaîne et la libération tardive résulte alors d'une désagrégation consécutive à la formation secondaire des parois sporales. Cette constatation s'applique à l'ensemble des résultats obtenus par les autres chercheurs sur ce type de matériel (*Aspergillus*, *Penicillium*. Fletcher, 1971).

Chez les *Cladosporium* par contre, après une initiation septale comparable, on assiste à une différenciation immédiate, symétrique, qui s'étend au-delà des deux lames de la cloison, dans l'épaisseur de la paroi latérale. La conidie, dans ce cas, possède d'emblée une paroi propre qui la protège sur toute sa surface y compris celle des points d'attache.

Par ailleurs, nous avions noté l'absence de corps de Woronine dans l'orifice septal des Hyphomycètes phialidés, absence constatée par les autres chercheurs au point que Carroll et Carroll (1974, b) la considèrent comme caractéristique de ce mode de conidiogenèse. Au contraire, la plupart des cicatrices septales observées sur les spores de *Cladosporium*, ou sur leurs conidiophores, présentent ce type d'organites dans le pore de la cloison ou à proximité de celui-ci. Leur présence a été également mise en évidence dans les chaînes acropètes du type *Torula* : *T. caligans*, *T. herbarum* et *T. graminis* (Ellis et Griffiths, 1975, a et b et 1976).

Ces deux caractères différentiels qui sous-entendent une simple individualisation dans le premier cas et une séparation complète dans le deuxième, pourraient bien intervenir dans le mode de construction de la chaîne des spores. L'importance des propriétés du septum conidien a été récemment évoquée par Madelin (1979). Pour cet auteur, trois facteurs concernant les modalités de développement du septum peuvent intervenir dans le type de disposition caténée : le moment de sa formation, son degré de différenciation et les caractéristiques du pore septal.

Le moment de la formation du septum au cours de la conidiogenèse, par le temps de différenciation plus ou moins long qu'il concède à la conidie peut, en effet, conditionner, en même temps que la plasticité des parois, le devenir de la cellule suivante, conidie ou cellule sporogène. Les résultats montrent que le moment exact de la formation du septum est difficile à situer au cours de la genèse et que, d'autre part, un développement conidien d'une durée équivalente peut conduire soit à un bourgeonnement acropète (*Gonatobotryum apiculatum*, Cole, 1973), soit à la formation basipète d'une phialospore d'*A. tamarii*. En outre, le temps d'initiation d'un bourgeonnement secondaire à l'apex d'une conidie de *Cladosporium herbarum* s'effectue, selon Hashmi et al. (1973) en 30 minutes, soit beaucoup plus rapidement qu'une conidie de *C. cladosporioides* (2 heures) telle que nous avons pu l'observer. Nous tenons à souligner ici, encore une fois, que les résultats chiffrés concernant la durée des étapes successives sont obtenus à partir de cultures effectuées dans des conditions particulièrement artificielles. Ils peuvent montrer des discordances qui ne traduisent pas forcément un processus biologique précis, mais peuvent résulter de perturbations physiologiques plus ou moins profondes.

De l'ensemble des documents dont nous disposons, il ressort que la *différenciation septale* peut s'effectuer de façon précoce ou différée, symétrique ou asymétrique par rapport au sillon médian, et modifier à des degrés divers, la structure primaire de la cloison.

A la lumière des données bibliographiques et d'observations personnelles, nous avons déjà suggéré (Roquebert, 1976) que la différenciation des composants du septum confère à l'ensemble une hétérogénéité qui peut conditionner la disposition relative des conidies à formation basipète phialidique en tête ou en chaîne. Il apparaît par ailleurs que dans le cas de certains annellides où la formation des chaînes basipètes (fausses chaînes sensu Subramanian, 1972) s'accompagne d'un bref accroissement percurrent du conidiophore, la différenciation s'effectue de façon asymétrique d'une manière plus précoce dans la partie distale (conidienne) du septum (*Scopulariopsis brevicaulis*, Cole et Aldrich, 1971 ; Hammill, 1971 ; *Spilocea pomi*, *Trichurus spiralis*, Hammill, 1973 et 1977). La partie proxi-

Source : MNHN, Paris

male de la cloison, plus longtemps épargnée par les modifications structurales, conserve une certaine plasticité qui autorise, après un bref allongement percurrent, son intégration dans la formation d'une nouvelle ébauche conidienne à la base de la conidie apicale.

Dans les chaînes acropètes de *Cladosporium*, nous avons régulièrement observé une différenciation profonde et symétrique du septum, accompagnant son obturation par des corps de Woronine. On peut objecter que nos observations portent sur les conidies détachées où, par conséquent, la migration de ces organites peut être consécutive à la rupture de la chaîne. Cependant, dans les mêmes conditions d'observation, les conidies d'*Aspergillus* ou de *Penicillium* ne montrent pas de corps de Woronine. fl semble que la différence entre les chaînes basipètes et acropètes se matérialise, chez ces dernières, par l'élaboration d'une cloison hermétique qui semble bloquer toute communication entre un élément basal, conidiophore ou conidie, et l'élément apical conidien. Les études effectuées sur les formations acropètes de *Gonatobotryum apiculatum* (Cole, 1973) et de l'anamorphe (*Monilia*) de *Sclerotinia fructigena* (Willets et Calonge, 1969) confirment la présence de corps de Woronine au niveau du pore.

Cette constatation est en contradiction avec la conception généralement admise selon laquelle l'ouverture septale, en autorisant la migration cytoplasmique vers l'apex, conditionne le bourgeonnement acropète (Madelin, 1979).

En réalité, si la différenciation et la fermeture septales que nous avons rapportées pour les *Cladosporium* peuvent expliquer l'impossibilité de la formation basipète des conidies, nous n'avons constaté aucun phénomène particulier aux plans cytologique et pariétal qui laisse présager d'un bourgeonnement acropète ultérieur. Il y aurait donc une dissociation possible entre les deux aptitudes conidiogènes qui conduisent au développement conidien basipète et au bourgeonnement acropète. Cette séparation est d'ailleurs évidente chez certains types de champignons à blastospores solitaires séparées du filament générateur par une cloison pigmentée à corps de Woronine, mais qui ne manifestent pas d'aptitude au bourgeonnement. Elle est illustrée par Griffiths (1974) chez les aleuries dématiées d'*Humicola grisea*.

Par ailleurs, la relation entre la conidiogenèse et la différenciation au niveau du septum et des parois conidiennes est soulignée par l'étude ultrastructurale réalisée par Vujicic et Muntanjola (1973) sur un mutant d'*Aspergillus aureolatus*, du type *Cladosarum*. Cultivé à 26°C, cet organisme donne une succession acropète de conidies à parois minces, séparées par des cloisons incomplètes à corps de Woronine, et dont la structure pariétale rudimentaire est différente de celle du type sauvage. Transférés à 18°C, les éléments du sommet de cette chaîne acropète acquièrent une structure pariétale normale, du type *Aspergillus*. Chez ce mutant, une perturbation dans la synthèse des parois s'accompagne donc d'une modification de la conidiogenèse.

D'une façon générale, chez les *Aspergillus*, la conidiogenèse basipète paraît relativement instable. Elle peut se transformer comme nous venons de le voir en bourgeonnement acropète chez des mutants naturels ou expérimentalement provoqués (Clutterbuck, 1969), ou en repousse mycélienne temporairement ou définitivement stérile (Nicot, 1976). La possibilité de conversion réciproque des chaînes basipètes du type annellidique en proliférations sympodiales est également évoquée dans les travaux de Fletcher (1975) sur les *Graphium penicillioides* et *G. putredinis*.

En conclusion, l'installation de la phase conidiogène des *Cladosporium*, contrairement au fonctionnement phialidique, n'exclut pas la reprise de croissance apicale. Celle-ci peut s'effectuer selon l'espèce, à un ou à deux niveaux : niveau conidien par bourgeonnement acropète et, au niveau du filament conidiophore, par développement latéral par rapport au septum conidien axial. Dans les deux cas, elle prend naissance à partir d'éléments jeunes, dont la faible différenciation autorise une extension sans rupture profonde de fa paroi. L'apparente continuité pariétale qui en résulte (holoblastie) dépend donc du faible degré de maturation de la paroi primaire (d'ailleurs modifiable sous certaines conditions de développement), mais n'implique pas de mécanisme propre différent de ceux que nous avons rapportés aux chapitres précédents.

Le rôle du septum, par sa différenciation profonde et symétrique ainsi que sa faculté d'obturation, apparaît ici déterminant, dans la mesure où la lame proximale est limitée dans sa prolifération.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

CONCLUSIONS

I. — MÉCANISMES PARIÉTAUX

La paroi du thalle fongique assure la protection et l'équilibre des échanges entre l'extérieur et le milieu ambiant. Ells enveloppe le cytoplasme et s'accroît avec lui au fur et à mesure de son extension.

Sa structure est peu à peu édifiée à partir de l'apex hyphal vers les régions situées plus en arrière où son épaisseur est considérablement accrue. Elle se forme grâce à l'intervention de la membrane plasmique à travers laquelle transitent les matériaux et enzymes nécessaires à sa construction. Ainsi se constitue, dans la paroi, un front de différenciation qui progresse avec le temps. *La structure et, dans une certaine mesure, la composition de la paroi, évoluent donc naturellement dans le mycélium jeune en fonction de l'éloignement de l'apex.* Par ailleurs, nous avons pu mettre en évidence sa sensibilité à une forte teneur en eau du milieu ambiant où les composants externes se trouvent dissociés et tendent à disparaître.

Nous sommes ainsi amenée à considérer la structure pariétale des hyphes jeunes comme susceptible d'évoluer soit en réponse à des processus biologiques tels que la maturation, soit en fonction du milieu.

Dans cette perspective, nous avons évité tout au long de ce travail de qualifier trop rigoureusement les strates constitutives de la paroi. Des observations répétées nous ont cependant conduite à distinguer une croûte externe A, relativement labile et sensible au milieu ambiant, entourant une couche homogène B et une couche profonde, de texture lamellaire, la couche C. L'évolution de la structure pariétale explique la difficulté de comparer les données acquises concernant la nature chimique de ses composants et résultant d'analyses globales, avec les informations d'ordre structural portant sur des zones limitées.

Cependant, le schéma de Hunsley et Burnett (glucanes externes superposés à des glycoprotéines entourant des composants chitinoïdes internes) s'applique globalement à l'organisation pariétale des champignons étudiés.

Nous avons pu suivre la progression centripète du front de différenciation sur les documents obtenus pour les *Cladosporium* où il est visualisé par la présence de pigments mélaniques. L'observation, jusque dans les hyphes âgées, d'une strate hyaline bordant le plasmalemme nous a portée à soupçonner, à ce niveau, l'existence d'une endocouche indifférenciée facilement atteinte par les enzymes véhiculés par les lomasomes.

L'étude de la dynamique des parois au cours des phases mycéliennes et propagatrices devait confirmer l'existence de cette strate interne, plastique, dont le rôle est primordial dans l'accomplissement de la morphogenèse végétative et conidienne.

En effet, cette dernière repose sur l'aptitude que possède le cytoplasme hyphal à pousser vers le milieu extérieur des diverticules ou ramifications qui restent en continuité avec l'hyphe-mère dont il ne diffère ni par la structure ni par le mode d'accroissement.

Source : MNHN, Paris

La sortie de ces « bourgeons latéraux » suppose une lyse ponctuelle préliminaire de la face interne de la paroi causant un point de faiblesse au niveau duquel la pression cytoplasmique endogène peut causer une protubérance.

Nous avons pu clairement observer ces stades initiaux lors de la formation des phialides dans les verticilles de *P. dichotomus* ou à la surface d'une ampoule d'*Aspergillus tamarii*. Dès leur formation, ces excroissances sont enveloppées d'une paroi mince qui est un prolongement de la strate interne plastique de la paroi fondamentale de l'byphe. Elles s'accroissent à travers les couches pariétales externes qui, sous l'effet de cette pression, s'étirent, ou se fracturent nettement, selon leur degré de plasticité (de différenciation).

Très vite, la jeune paroi acquiert toutes les aptitudes de la paroi fondamentale dont elle est issue. Les composants externes y sont rapidement reconstitués et elle est, à son tour, le siège d'une différenciation centripète qui lui confère une hétérogénéité structurale qui limitera sa réponse aux sollicitations endogènes. Seule la strate au contact du plasmalemme reste plastique.

Cette dernière faculté ne se manifeste pas seulement lors des formations externes ; *elle régit également la formation des cloisons intrahyphales.* Celles-ci, en effet, tirent leur origine d'une avancée *centripète* de la couche pariétale interne qui se démarque ainsi des strates externes rectilignes qui ne participent pas à ce mouvement, du fait de leur rigidité. La synthèse de matériel septal s'effectue à partir du plasmalemme de deux cellules en voie de séparation. La cloison est ainsi constituée de deux lames symétriques qui s'affrontent au niveau du sillon médian. Chaque lame conserve le même pouvoir et le même schéma de différenciation que la paroi fondamentale dont elle provient. *La plasticité reste fonction de la proximité du plasmalemme et des matériaux qui y sont dispensés.*

Lorsque en un même point de l'hyphe se sont déroulés successivement des phénomènes morphogénétiques causant un clivage longitudinal de la paroi tel que nous venons de le rapporter : septation puis ramification, septation puis reprise de l'accroissement du conidiophore (*Cladosporium herbarum*) ou septations successives (col des phialides), *nous avons pu observer clairement la superposition régulière des couches concentriques d'épaisseurs sensiblement égales, provenant des délaminations successives.*

Nous concluons ainsi à la généralité de la présence, dans une paroi définitivement structurée et stable, d'une zone interne, potentiellement active, pouvant, sous une impulsion venue du cytoplasme, se développer et suppléer aux fonctions de la paroi-mère. Il y a donc, au cours de la croissance latérale du champignon, une sorte de renouvellement pariétal permanent, venu de l'intérieur de l'hyphe et gagnant le milieu externe.

Cette faculté est préservée jusque dans les parties âgées des filaments comme en témoignent les repousses endohyphales qui se produisent dans du mycélium parfois très âgé. Le seul facteur indispensable à cette régénérescence est la proximité d'un élément cellulaire à cytoplasme actif.

Notre interprétation de la dynamique pariétale satisfait aux documents proposés par d'autres chercheurs travaillant sur le même type de matériel (Hammill, Harvey, Carroll, Reisinger, Campbell, Gbiorse, Fletcher, etc...) et pourrait même, semble-t-il, s'appliquer à des groupes plus éloignés : Mucorales (Dargent, 1977) et Phycomycètes, (Fèvre, 1976).

II. — CARACTÉRISTIQUES CONIDIENNES

Les mécanismes pariétaux impliqués dans la conidiogenèse blastique ne diffèrent pas de ceux que nous venons de décrire pour la morphogenèse végétative.

L'édification de l'appareil conidiophore se déroule suivant les mêmes phases que la construction d'un thalle : croissance apicale, ramification, septation, et s'effectue selon les mêmes processus.

La genèse conidienne est analogue à la formation d'une protubérance cytoplasmique endogène coiffée d'une paroi qui n'est que le prolongement de la strate interne plastique de la cellule génératrice.

La figure 14 réunit, autour du schéma fondamental de la paroi, les diverses traductions de cette

Source : MNHN, Paris

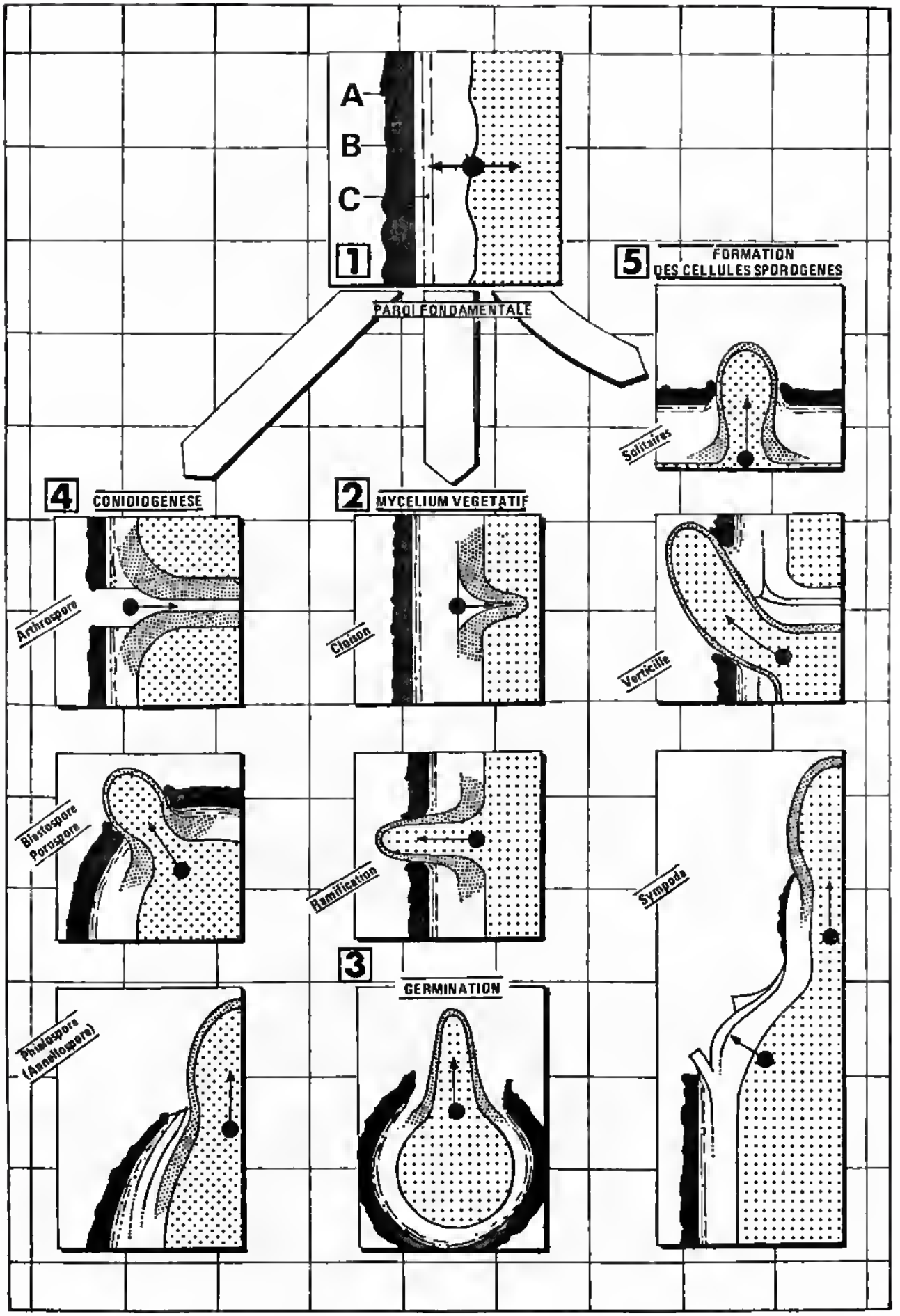


Fig. 14. — Aspects dynamiques des constituants de la paroi au cours des diverses phases de la morphogenèse.

Source : MNHN, Paris

propriété dans le mycélium végétatif, la formation des cellules conidiogènes et la conidiogenèse.

Par ailleurs (Roquebert, 1981), nous avons pu constater, dans le mycélium, l'influence de la teneur en eau du milieu ambiant sur les strates externes de la paroi, qui tendent à disparaître en milieu aqueux. L'unité de la constitution pariétale entre les formes mycélienne et conidiogène nous conduit à penser qu'une même sensibilité à l'humidité pourrait se retrouver dans les cellules conidiogènes. Dans ces conditions, l'expression du bourgeonnement conidien et son observation seraient modifiées. La définition précise des rapports entre la cellule conidiogène et la conidie devra tenir compte de cette faculté.

Cependant, si la dynamique des parois est fondamentalement identique dans les phases mycélienne et conidienne, l'acquisition du caractère proprement sporal requiert des processus particuliers d'un autre ordre :

— arrêt (temporaire ou définitif) de l'accroissement apical ;
— différenciation et clivage des septa ;
— différenciation d'une paroi propre à la conidie et acquisition d'une structure cytologique particulière.

a) *Arrêt de l'accroissement axial.*

La croissance d'un élément préconidiogène s'effectue, comme un filament, de façon apicale, c'est-à-dire que les activités de synthèse sont limitées à une étroite zone terminale. A cette localisation stricte, ponctuelle, conditionnant l'accroissement linéaire, se substitue un élargissement du dôme d'activité qui conduit à une formation plus ou moins sphérique. Ce changement morphologique externe s'accompagne d'une organisation cytoplasmique interne non plus orientée de façon axiale mais répartie latéralement dans tout le volume offert.

Ce changement d'orientation définit le caractère blastique, proprement sporal, de l'élément terminal qui sera rapidement individualisé par une cloison.

Après la formation de la première conidie apicale, la croissance végétative axiale peut reprendre de façon très brève (annellophores), nettement marquée (conidiophores de *Cladosporium herbarum*) ou cesser définitivement, conduisant alors à la formation d'éléments sphériques successifs tels que nous avons pu les observer dans le cas de *Aspergillus tamarii*.

Dans les régions apicales, la paroi faiblement différenciée reste plastique. De ce fait, l'enveloppe de la première conidie, en apparente continuité avec la cellule-mère, se fait par simple étirement.

La nature des relations pariétales lors du bourgeonnement conidien dépend donc du degré de maturation de la paroi. Seule la formation de la première conidie à l'apex d'un filament fertile peut être qualifiée de « holoblastique » au sens de Kendrick (1971).

b) *Différenciation et clivage des septa.*

S'il existe, comme nous venons de le voir, une sorte de relai entre l'accroissement axial et l'accroissement sphérique au cours de la conidiogenèse blastique, il nous faut également souligner l'*étroite relation entre l'initiation et la nature du septum conidien et le bourgeonnement suivant.*

Dans la cellule sporogène nous avons vu que le *lieu de formation des septa* conidiens, fixe ou mobile, unique ou répétitif, par les délaminations pariétales engendrées, peut caractériser un mode conidiogénétique, phialidique, par exemple.

Le *moment de l'initiation septale*, lors de la formation de l'ébauche conidienne peut également être cause de changements morphologiques. La formation de collerettes au sommet des phialides peut résulter d'un cloisonnement tardif de la première conidie, formée par une cellule dont la paroi apicale, ayant eu le temps de se différencier, est devenue rigide et par le fait, se trouve rompue et non pas étirée sous la poussée des conidies suivantes (exemple *Phialocephala dimorphospora*, Carroll et Carroll, 1974, b).

Au cours de l'étude de la genèse conidienne des *Cladosporium*, nous avons observé que *la différenciation précoce et symétrique* des lames septales, par la rigidité qu'elle confère à la paroi de la cellule

Source : MNHN, Paris

inférieure, peut inhiber sa prolifération axiale. Plus que l'obturation septale (Madelin, 1979), l'intensité de la différenciation peut ainsi influer sur le devenir du bourgeon suivant.

Les conséquences physiques de différence de tension entre des éléments rigides et plastiques, superposés ou voisins, sont rarement évoquées dans le comportement des cellules fongiques. Tout au long de ce travail il nous est apparu cependant que, au moins au niveau des parois, la traduction externe des phénomènes biologiques pouvait résulter de la conjugaison d'une action mécanique et d'une programmation génétique propre au champignon étudié.

Dans cette optique, nous avons précédemment souligné le rôle déterminant de la consistance élastique de la paroi apicale d'une cellule sporogène lors de la formation de la première conidie.

La structure des septa interconidiens, par les contraintes physiques qu'elle impose aux cellules mitoyennes, peut, dans une certaine mesure, conditionner leur devenir.

Chez les *Cladosporium*, la différenciation rapide et symétrique des lames septales entraîne une fragilité du groupement caténé où chaque élément est indépendant. Elle peut empêcher l'épanouissement du cytoplasme proximal alors contenu dans une paroi rigide. Par contre, nous avons montré que les conidies d'*Aspergillus tamarii* sont unies en chaînes durables grâce à la présence de septa, d'abord minces, puis épaissis tout en gardant une structure homogène. Ce caractère se retrouve d'ailleurs chez d'autres champignons à chaînes persistantes tels que les *Penicillium* (Fletcher, 1971) ou les *Aspergillus* : *clavatus* (Hanlin, 1976) et *niger* (Tanaka et Yanagita, 1963). La paroi sporale se différencie à l'intérieur d'une gaine commune dont les constituants se désagrègent peu à peu. A la longue, il se crée une discordance entre les conidies internes à paroi continue et homogène, et le connectif lâche qui les unit. Des pressions externes venues du milieu ambiant pourront causer la rupture *mécanique* de la chaîne sans qu'il y ait lyse des septa.

c) *Acquisition des caractères cytologiques propres à la conidie.*

Après son individualisation par la formation d'une cloison, la conidie peut acquérir des caractères qui lui sont propres. Dans les exemples étudiés ce sont principalement : *la formation d'une paroi plus ou moins épaissie ou différenciée* et *l'accumulation de matériel de réserve* (lipides et glycogène). Ces deux traits sont liés à la nature durable des éléments propagateurs, qui doivent survivre bien après leur détachement de la cellule-mère.

Les résultats concernant les parois sporales chez les Deutéromycotinés (Akai et al., 1976) montrent que leur structure peut être plus ou moins différenciée. D'une façon générale, l'acquisition de cette enveloppe propre peut, selon les auteurs, se réaliser par épaississement ou par adjonction de strates nouvelles formées à l'intérieur des couches préexistantes.

Dans le cas des champignons qui nous intéressent, la forme la plus simple est représentée par *Stilbothamnium nudipes* où l'enveloppe sporale ne diffère pas structuralement de celle de la phialide. Elle est pourtant épaissie en sa partie supérieure et ornementée superficiellement.

Par contre, pour *Aspergillus tamarii*, la superposition de couches endogènes nouvellement synthétisées conduit à un élément propagateur totalement différent de la cellule-mère au point de vue pariétal. Leur lente élaboration autour de primordia relativement éloignés de la phialide à laquelle ils sont encore attachés, suggère que cette différenciation est commandée à partir de l'élément conidien lui-même. Cette propriété se retrouve d'ailleurs dans les conidies des *Cladosporium* où nous avons vu que chaque conidie pouvait être considérée comme une entité biologique autonome.

Il apparaît donc que, dans ces deux derniers cas, une conidie adulte s'élabore en deux étapes : *la genèse*, rattachée à des processus typiquement hyphaux, et *la maturation*, acquise par des réactions proprement conidiennes. Les formes les plus simples, du type *Stilbothamnium nudipes*, abrègent ou suppriment cette dernière étape.

Un aspect de « l'autonomie » conidienne se manifeste également au niveau des réserves métaboliques.

Presque nulles ou absentes chez *Stilbothamnium nudipes*, elles s'observent en abondance dans les conidies de *Aspergillus tamarii* et, en moins grande quantité, chez *Cladosporium*. Cette évolution semble s'effectuer dans la même direction systématique que la différenciation pariétale. Les produits

Source : MNHN, Paris

de réserve que nous avons pu déceler sont principalement de deux types : glycogène et lipides. Leur présence n'est pas toujours simultanée. En effet, chez *Aspergillus tamarii* on observe du glycogène dans la phialide et l'ébauche conidienne (Pl. 11, fig. 1) mais les lipides, sous forme de globules, ne sont présents que dans les conidies mêmes (Pl. 12, fig. 4). Enfin, conidiophores et conidies de *Cladosporium* possèdent des granules lipidiques mais peu de glycogène.

III. — CONCLUSIONS CONCERNANT UNE CLASSIFICATION « NATURELLE » DES CHAMPIGNONS

La remarquable diversité des appareils conidiogènes des Deutéromycètes repose, comme nous l'avons montré, sur trois mécanismes fondamentaux : accroissement apical ;
ramification ;
cloisonnements,
également présents dans la phase mycélienne et qui ne sauraient, de ce fait, caractériser la phase reproductive. Cependant, dans un même organisme, la combinaison de ces divers processus entre eux, l'ordre de leur succession ou leur arrêt, conduisent à une profusion de formes dont l'observation peut être utile au point de vue systématique.

A) *Polymorphisme.*

Théoriquement, dans un même élément conidiogène, l'alternance de bourgeonnements et de repousses peut, selon l'amplitude et la direction de ces dernières, conduire, par exemple, de la phialide à l'annellide (*Scopulariopsis*), puis aux conidiophores percurrents du type *Stemphylium* ou sympodiaux du type *Cladosporium* ou *Tritirachium*.

Madelin (1979) souligne les incertitudes taxinomiques que peut causer une telle évolution morphologique lorsqu'elle se rencontre dans le genre *Venturia* par exemple dont les anamorphes peuvent présenter une forme conidienne basipète (*Venturia inaequalis*), acropète (*Venturia carpophyla*) ou sympodiale (*Venturia pirina*).

Par ailleurs, le pléomorphisme, chez une même espèce de champignon imparfait, est fréquent. On peut rencontrer une forme phialidique liée à une forme aleuriosporique ou aleuriosporique et sympodiale, l'une des formes pouvant, selon les conditions de développement, disparaître complètement (Wang, 1979).

Enfin, la phialide elle-même caractérisée par l'unité du locus conidiogène, ne présente pas, dans les conditions normales de développement de phase de repousse végétative. Cependant, il n'est pas rare d'observer des formes tératologiques d'*Aspergillus* (Nicot, 1976) où les phialides donnent naissance à des hyphes mycéliennes bien développées et parfois fertiles à leur tour.

La théorie de l'évolution des phialides proposée par Chadefaud en 1960 peut, à notre avis, trouver une justification dans cette faculté de prolifération. Pour l'auteur, le sommet de ces cellules sporogènes présente un goulot par lequel sont émises successivement les spores. Ce goulot peut se prolonger en forme de « style » soit unique et axial (*Penicillium* (*Isaria*) *truncatum*), soit multiple à conidies solitaires (*Fusicladium*) et parfois disposés en sympodes (*Beauveria*). Pour nous, chacune de ces étapes se distinguerait de la précédente par la reprise de l'accroissement apical selon des directions diverses sans doute en relation avec la nature des cloisons conidiennes, selon le processus que nous avons rapporté pour les *Cladosporium*.

B) *Déterminisme de la morphologie.*

Si l'ensemble de ces constatations s'explique par notre thèse selon laquelle toute paroi mycélienne est potentiellement capable d'assurer les mécanismes conidiogénétiques, le problème de leur

Source : MNHN, Paris

induction reste posé. On ne dispose que de peu de renseignements concernant l'existence et la nature des relations entre les mécanismes nucléaires et conidiogénétiques. Hormis quelques types phialidiques qui semblent posséder un schéma nucléaire commun (Hammill, 1977), on ne peut encore proposer de mécanisme caryologique précis pour les autres modes de conidiogenèse. Il apparaît qu'une légère mutation à un stade suffisamment précoce peut conduire à des changements importants au niveau de l'expression conidienne. Chez *Aspergillus nidulans*, la seule intervention de deux loci chromosomiques est requise pour la transformation de conidiophores en conidies (Clutterbuck, 1969).

C) *Influence des conditions de développement.*

Si l'induction génétique naturelle ne saurait être mise en question, l'influence des conditions de développement apparaît également déterminante. Le mode de conidiogenèse blastique est lié à l'état de maturité de la paroi dans la zone conidiogène. Le caratère « holo- » ou « entéro- » blastique des conidies dépend de l'âge de la paroi, de l'état hygrométrique du milieu ambiant et du degré de pigmentation chez les champignons dématiés.

Ces facteurs, variables dans la nature au cours de la vie du champignon, sont maintenus à peu près stables en culture. Le développement accéléré obtenu dans des conditions artificielles peut donc, en maintenant la plasticité des parois, influer sur la morphologie du système conidiogène. Cette faculté est d'ailleurs généralement reconnue chez nombre de champignons pléomorphiques (Wang, 1979). Enfin, la mélanisation, par le contraste et l'épaississement qu'elle cause dans les parois fongiques, peut conduire à une apparente particularité conidiogénétique. C'est le cas des « porospores » (trétoconidies, selon Ellis, 1971) où la lyse préliminaire à la sortie latérale d'une ébauche conidienne se trouve soulignée par une perte ponctuelle de pigmentation mais ne correspond nullement à un mode propre de conidiogenèse. Si l'observation des pores peut être valablement rapportée dans une description morphologique, on ne saurait lui accorder de signification ontogénique.

Il apparaît, en conclusion, que les formes blastiques de reproduction végétative chez les champignons sont caractérisées par une grande plasticité reposant elle-même sur l'aptitude au renouvellement quasi permanent des parois.

Une démarche analytique exclusivement centrée sur la dynamique de leur développement ne saurait donc suffire à étayer une classification naturelle des champignons.

Les conidies, par leur morphologie et leur structure, apparaissent comme l'élément final le plus stable. De ce fait, leur observation quelque peu délaissée ces dernières années au profit des mécanismes ontogéniques, retrouve pour nous toute son utilité.

Ainsi, la physionomie d'un champignon dépend de facteurs morphologiques, écologiques et biologiques dont l'ensemble définit l'organisme.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

BIBLIOGRAPHIE

Akai S., Fukutomi M., Kunoh H. & Shiraishi M., 1976. — Fine structure of the wall and germ tube change during germination. *In « The fungal spore »*, Weber D.J., Hess W. M., Wiley J., New York.

Anderson J. G. & Smith J. E., 1971. — The production of conidiophores and conidia by newly germinated conidia of *Aspergillus niger* (microcycleconidiation). *J. Gen. Microbiol.*, **69**, 185-197.

Anderson J. G. & Smith J. E., 1972. — The effects of elevated temperatures on spore swelling and germination in *Aspergillus niger*. *Canad. J. Microbiol.*, **16**, 289-297.

Aronson J. M., 1965. — The cell wall. *In « The fungi »*, vol. I, Ainsworth and Sussman, 49-76, Academic Press. New York, Londres.

Aronson J. M. & Machlis L., 1959. — The chemical composition of the hyphal walls of the fungus *Allomyces*. *Am. J. Bot.*, **46**, 292-300.

Arx J. A. von, 1950. — Uber die Ascusform von *Cl. herbarum*. *Sydowia*, **4**, 320-324.

Bartnicki-Garcia S., 1968. — Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungi. *Ann. Rev. Microbiol.*, **22**, 87-108.

Bartnicki-Garcia S., 1973. — Fundamental aspects of hyphal morphogenesis. *Symp. Society general Microbiol.*, **23**, 245-267.

Bartniki-Garcia S. & Lippman E., 1969. — Fungal morphogenesis : cell wall construction in *Mucor rouxii*. *Science*, **165**, 302-304.

Bracker C. E., 1967. — Ultrastructure of fungi. *Ann. Rev. Phytophath.*, **5**, 343-374.

Brewer J. G., & Boerema G. M. 1965. — Electron microscope observations on the development of pycnidiospores in *Phoma* and *Ascochyta* spp. *Proc. Koninkl. Nederl. Acad. van Wetenschappen*, **68**, 82-97.

Brotzman H. G., Calvert O. H., Brown M. F. & White J. A., 1975. — Holohlastic conodiogenesis in *Helminthosporium maydis*. *Canad. J. Bot.*, **53**, 813-817.

Buckley P. M., Wyllie T. D. & Devay J. E., 1969. — Fine structure of conidia and conidium formation in *Verticillium albo-atrum* and *V. nigrescens*. *Mycologia*, **61**, 240-250.

Bujovic-Cvetic D. & Vujicic R., 1974. — Ultrastructure of conidiophores in *Aspergillus flavus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **63**, 131-135.

Burnett J. H., 1968. — Fundamentals of mycology. Ed. Edward Arnold, Londres.

Burnett J. H., 1979. — Aspects of the structure and growth of hyphal walls. *In* Burnett J. H. & Trinci A. P. J. *« Fungal walls and hyphal growth »*, Cambridge University Press.

Burnett J. H. & Trinci A. P. J., 1979. — Fungal walls and hyphal growth. Cambridge University Press.

Cabib E., Ulane R. & Bowers B., 1974. — A molecular model for morphogenesis : the primary septum of yeast. *Current topics in cell regulation*, **8**, 1-32.

Cabia E. & Bowers B., 1975. — Timing and function of chitin synthesis in yeast. *J. of Bacteriology*, **124**, 1586-1593.

Calonge F. D., 1968. — Origin and development of intrahyphal hyphae in *Sclerotinia fructigena*. *Mycologia*, **60**, 109-121.

Campbell R., 1968. — An electron microscopic study of spore structure and development in *Alternaria brassicola*. *J. Gen. Microbiol.*, **54**, 381-392.

Campbell R., 1970. — An electron microscope study of exogenously dormant spores, spore germination, hyphae and conidiophores of *Alternaria brassicicola*. *New Phytol.*, **69**, 287-293.

Source : MNHN, Paris

Campbell R., 1972. — Ultrastructure of conidium ontogeny in the Deuteromycete fungus *Stachybotrys atra* Corda. *New Phytol.*, **71**, 1143-1149.

Campbell R., 1975*a*. — The ultrastructure of the formation of chains of conidia in *Memnoniella echinata*. *Mycologia*, **4**, 760-769.

Campbell R., 1975*b*. — The ultrastructure of the *Arthrinium* state of *Apiospora montagnei*. *Protoplasma*, **83**, 51-60.

Carroll F. E., 1972. — A fine structural study of conidium initiation in *Stemphylium botryosum* Wallroth. *J. Cell. Sci.*, **11**, 33-47.

Carroll F. E. & Carroll G. C., 1974*a*. — The fine structure of conidium initiation in *Ulocladium atrum*. *Canad. J. Bot.*, **52**, 443-446.

Carroll G. C. & Carroll F. E., 1974*b*. — The fine structure of conidium development in *Phialocephala dimorphosphora*. *Canad. J. Bot.*, **52**, 2119-2128.

Chadefaud M., 1960*a*. — Les végétaux non vasculaires. *In* « *Traité de Botanique Systématique* », Chadefaud M. et Emberger L., éd. Masson, Paris.

Chadefaud M., 1960*b*. — L'asque et la phialide des Ascomycètes. *C. R. Acad. Sic.*, **250**, 1317-1319.

Chadefaud M., 1962. — Sur quelques détails de l'organisation morphologique des parois cellulaires chez les Floridées filamenteuses. *Bull. Soc. bot. Fr.*, **109**, 148-156.

Chadefaud M., 1969. — Données nouvelles sur la paroi des asques. *C. R. Acad. Sci.*, **268**, 1041-1044.

Clutterbuck A. J., 1969. — A mutational analysis of conidial development in *Aspergillus nidulans*. *Genetics*, **63**, 317-327.

Cole G. T., 1973. — Ultrastructural aspects of conidiogenesis in *Gonatobotryum apiculatum*. *Canad. J. Bot.*, **51**, 1677-1684.

Cole G. T., 1975*a*. — The thallic mode of conidiogenesis in the Fungi Imperfecti, *Canad. J. Bot.*, **53**, 2983-3001.

Cole G. T., 1975*b*. — A preparatory technique for examination of imperfect fungi by seanning electron. microscopy. *Cytobios.*, **12**, 115-121.

Cole G. T., 1976. — Conidiogenesis in pathogenic Hyphomycetes, I *Sporothrix*, *Exophiala*, *Geotrichum* and *Microsporum*. *Sabouraudia*, **14**, 81-99.

Cole G. T., 1977. Blastic and thallic conidial development in the Fungi Imperfecti. *Second Int. Mycol. Congress*, *Tampa*, U.S.A.

Cole G. T., & Aldrich H. C., 1971. — Ultrastructure of conidiogenesis in *Scopulariopsis brevicaulis*. *Canad. J. Bot.*, **49**, 745-755.

Cole G. T. & Kendrick W. B., 1968. — A thin culture chamber for time-lapse photomicrography of fungi at high magnifications. *Mycologia*, **60**, 340-344.

Cole G. T. & Kendrick W. B., 1969. — Conidium ontogeny in Hyphomycetes. The phialides of *Phialophora*, *Penicillium* and *Ceratocystis*. *Canad. J. Bot.*, **47**, 779-789.

Cole G. T. & Samson R. A., 1979. Patterns of development in conidial fungi. Pitman, Ed. Londres.

Collinge A. J., Fletcrer M. H. & Trinci A. P. J., 1978*a*. — Physiology and cytology of septation and branching in a temperature sensitive colonial mutant of *Neurospora crassa*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **71**, (1), 107-120.

Collinge A. J., Miles E. A. & Trinci A. P. J., 1978*b*. — Ultrastructure of *Penicillium chrysogenum* hyphae from colonies and chemostat cultures. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **70** (3), 401-408.

Corlett M., Chong J. & Kokko E. G., 1976. — The ultrastructure of the *Spilocea* state of *Venturia inaequalis* in vivo. *Canad. J. Microbiol.*, **22**, 1144-1152.

Cortat M. & Turian G., 1974. — Conidiation of *Neurospora crassa* in submerged culture without mycelial phase. *Arch. für Mikrobiol.*, **95**, 305-309.

Costantin, 1888. — Les mucédinées simples. Ed. Klincksieck, Paris.

Dargent R., 1972. — Ultrastructure des hyphes en croissance de *Mucor mucedo* et la différenciation de leurs ramifications. *C. R. Acad. Sci.*, **275**, 1485-1488.

Dargent R., 1977. — Cytodifférenciation et croissance apicale chez les champignons filamenteux (*Achlya bisexualis*, *Mucor mucedo*, *Hypomyces chlorinus*). Thèse Fac. Sc., Toulouse.

Source : MNHN, Paris

Delvecchio V. G., Corbaz R. & Turian G., 1969. — An ultrastructural study of the hyphae, endoconidia and chlamydospores of *Thielaviopsis basicola*. *J. Gen. Microbiol.*, **58**, 23-27.

Djerbi M., Kerlan C. & Bompeix G., 1974. — Observation sur la morphogenèse et la cytologie des fructifications du *Septoria tritici* Rob. et Desm. *Ann. Inst. Nat. Rech. Ag., Tunisie*, **47**, 1-56.

Ellis D. H. & Griffiths D. A., 1974. — The location and analysis of melanins in cell wall of some soil fungi. *Canad. J. Microbiol.*, **20**, 1379-1386.

Ellis D. H. & Griffiths D. A., 1975*a*. — The fine structure of conidial development in the genus *Torula*. **1**, *T. herbarum* et *T. herbarum f. quaternella*. *Canad. J. Microbiol.*, **20**, 1661-1675.

Ellis D. H. & Griffiths D. A., 1975*b*. — The fine structure of conidial development on the genus *Torula*. **II**, *T. caligans* and *T. terrestris*. *Canad. J. Microbiol.*, **21**, 1921-1929.

Ellis D. H. & Griffiths D. A., 1975*c*. — Melanin deposition in hyphae of a species of *Phomopsis*. *Canad. J. Microbiol.*, **21**, 442-452.

Ellis D. H. & Griffiths D. A., 1976. — The fine structure of conidial development in the genus *Torula*. **III**, *T. graminis* Desm. *Canad. J. Microbiol.*, **22**, 858-866.

Ellis M. B., 1971. — Dematiaceous Hyphomycetes. *C.M.I.*, Kew.

Fayret J., 1975. — Étude du cycle de reproduction du *Gnomonia leptostyla*. Déterminisme et physiologie. *Thèse Fac. Sci., Toulouse*.

Fèvre M., 1976. — Recherches sur le déterminisme de la morphogenèse hyphale. *Thèse Fac. Sc., Lyon*.

Fèvre M., Abrigeon E. & Jacq J., 1972. — Répartition des noyaux et ramifications des hyphes de *Rhizoctonia solani* Kuhn., analyse statistique. *C. R. Acad. Sci.*, **274**, 2302-2305.

Fiddy C., & Trinci A. P. J. 1976. — Septation in mycelia of *Mucor hiemalis* and *Mucor ramannianus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **68**, 118-120.

Fletcher H. J., 1971. — Conidium ontogeny in *Penicillium*. *J. Gen. Microbiol.*, **67**, 207-214.

Fletcher H. J., 1975. — Conidiophore morphology in *Graphium putredinis*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **64**, 67-71.

Fletcher H. J., 1976. — Electron microscopy of genesis, maturation and wall structure of conidia of *Aspergillus terreus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **66** (1), 27-34.

Fresenius G., 1850. — Beiträge zur Mykologie, I. *Frankfurt a. M.*, 1-38.

Fries E., 1829. — Systema Mycologicum. Greifswald, vol. 3, 368-373.

Gams W., 1968. — Die systematische Stellung der Schimmelpilze *Fusidium buxi* und *Verticillium candelabrum*. *Acta Bot. Neerl.*, **17** (6), 455-460.

Gams W., 1978. — Connected and disconnected chains of phialoconidia and *Sagenomella* gen. nov. segregated from *Acremonium*. *Persoonia*, **10**, 97-112.

Gbiorse W. C. & Edwards M. R., 1973. — Ultrastructure of *Aspergillus fumigatus* conidia development and maturation. *Protoplasma*, **76** (1), 49-59.

Griffiths D. A., 1974. — Development and structure of the aleuriospores of *Humicola grisea*. *Can. J. Microbiol.*, **20**, 55-58.

Griffiths D. A. & Campbell W. P., 1972. — Fine structure of conidial development in *Colletotrichum atramentarium*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **59**, 483-489.

Grove S. N., 1978. — The cytology of hyphal tip growth. *In* « *Filamentous fungi* », IIf. Smith et Berry, ed. Academic Press.

Grove S. N. & Bracker C. E., 1970. — Protoplasmic organisation of hyphal tips among fungi : vesicles and Spitzenkörper. *J. Bacteriol.*, **104**, 989-1009.

Hammill T. M., 1971. — Fine structure of annellophores. **I**, *Scopulariopsis brevicaulis* and *S. koningii*. *Amer. J. Bot.*, **58**, 88-97.

Hammill T. M., 1972*a*. — Electron microscopy of phialoconidiogenesis in *Metarrhizium anisopliae*. *Amer. J. Bot.*, **59**, 317-326.

Hammill T. M., 1972*b*. — Electron microscopy of conidiogenesis in *Chloridium chlamydosporis*. *Mycologia*, **64**, 1054-1065.

Hammill T. M., 1972*c*. — Fine structure of annellophores. **III**, *Acrogenospora sphaerocephala*. *Canad. J. Bot.*, **50**, 581-585.

Source : MNHN, Paris

Hammill T. M., 1973. — Electron microscopy of conidiogenesis in the holoblastic sympodial *Tritirachium roseum*. *Can. J. Bot.*, **51** , 2033-2036.

Hanlin R. T., 1976. — Phialide and conidium development in *Aspergillus clavatus*. *Amer. J. Bot.*, **63**, 144-155.

Harvey I. C., 1974. — Light and electron microscope observations of conidiogenesis in *Pleiocheta setosa* (Kirchn.) Hughes. *Protoplasma*, **82**, 203-221.

Harz C. O., 1871. — Einige neu Hyphomyceten Berlin's und Wien's nebst Beitragen zur systematik derselben. *Bull. Soc. Imp. Nat., Moscou*, XLIV, **1**, 139-140.

Hashmi M. H., Morgan-Jones G. & Kendrick W. B., 1973. — Conidium ontogeny in Hyphomycetes. The blastoconidia of *Cladosporium herbarum* and *Torula herbarum*. *Canad. J. Bot.*, **51**, 1089-1091.

Hauman L., 1936. — Les champignons séminicoles des forêts tropicales. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.*, **69**, 96-129.

Hawes C. R. & Beckett A., 1977. — Conidium ontogeny in the *Chalara* state of *Ceratocytis adiposa* :
I. Light microscopy. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **68**, 259-265.
II. Electron microscopy. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **68**, 267-276.

Hawker L. E., 1957. — The physiology of reproduction in fungi. *Cambridge Univ. Press.*

Hawker L. E., 1966. — Environmental influences on reproduction. *In « The Fungi »*, Ainsworth G. C. and Sussman A. S., éd., vol. II, 435-469, Academic Press, New York, Londres.

Hennebert G. L. & Weresub L. K., 1977. — Terms for states and forms of fungi, their names and types. *Mycotaxon*, **6**, 207-211.

Hoch H. C. & Maxwell D. P., 1974. — Proteinaceous hexagonal inclusions in hyphae of *Whetzelinia sclerotiorum* and *Neurospora crassa*. *Canad. J. Microbiol.*, **20**, 1029-1035.

Hughes S. J., 1953. — Conidiophores, conidia and classification. *Canad. J. Bot.*, **31**, 577-659.

Hughes S. J., 1971*a*. — Percurrent proliferation in fungi, algae and mosses. *Canad. J. Bot.*, **49**, 215-231.

Hughes S. J., 1971*b*. — Phycomycetes, Basidiomycetes and Ascomycetes as Fungi Imperfecti. *In « Taxonomy of Fungi Imperfecti »*, éd. Kendrick B., Univ. Toronto Press, 7-36.

Hunsley D. & Burnett J. H., 1970. — The ultrastructural architecture of the walls of some hyphal fungi. *J. Gen. Microbiol.*, **62**, 203-218.

Hunsley D. & Gooday G. W., 1974. — The structure and development of septa in *Neurospora crassa*. *Protoplasma*, **82**, 125-146.

Janczewski E., 1894. — Recherhees sur le *Cladosporium herbarum* et ses compagnons habituels sur les céréales. *Bull. Inst. Acad. Sci. Cracovie*, 187-208.

Janex-Favre M. C., 1978. — Formation et évolution des ascospores chez le *Diatrype disciformis* (Hoffm., Fries) : étude ultrastructurale. *Rev. de Mycol.*, **42**, 265-276.

Jones D., Farmer V. C. & Bacon J. S. D., 1972. — Comparison of ultrastructure and chemical components of cell walls of certain plant pathogenic fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **59** (1), 11-23.

Jones J. P., 1976. — Ultrastructure of conidium ontogeny in *Phoma pomorum*, *Microsphaeropsis olivaceum*, *Conyothyrium fuckelii*. *Canad. J. Bot.*, **54** (10), 831-851.

Jones J. P., 1977. — The ultrastructure of conidium ontogeny in *Pestalotiopsis neglecta*. *Canad. J. Bot.*, **55**, 766-771.

Karnovsky M. J., 1971. — A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, **27**, 137 (abstr.).

Katz D. & Rosenberger R. F., 1971*a*. — Lysis of an *Aspergillus nidulans* mutant blocked in chitin synthesis and its relation to wall assembly and wall metabolism. *Arch. Mikrobiol.*, **80**, 284-292.

Katz D. & Rosenaerger R. F., 1971*b*. — Hyphal wall synthesis in *A. nidulans* : effect of protein synthesis inhibition and osmotic shock on chitin insertion and morphogenesis. *J. Bacteriol.*, **108**, 184-190.

Katz D., Goldstein R. F. & Rosenberger R. F., 1972. — Model for branch initiation in *A. nidulans* based on measurments of growth parameters. *J. Bacteriol.*, **109**, 1097-1110.

Kendrick W. B., 1971. — Conclusions and recommendations in « *Taxonamy of Fungi Imperfecti* », Kendrick B. ed. Univ. Toronto Press, 253-262.

Kendrick W. B., Cole G. T. & Bhatt G. C., 1968. — Conidium ontogeny in Hyphomycetes. *Gonatobotryum apiculatum* and its botryose blastospores. *Canad. J. Bot.*, **48**, 591-596.

Source : MNHN, Paris

KHAN S. R., ALDRICH H. C., 1973. — Conidiogenesis in *Termitaria synderi* (Fungi Imperfecti). *Canad. J. Bot.* **51**, 2307-2314.

LEACH C. M., 1962. — Sporulation of diverse species of fungi under near ultra-violet radiation. *Canad. J. Bot.*, **40**, 151-161.

LEACH C. M. & TRIONE E. J., 1965. — An action spectrum for light induced sporulation in the fungus *Ascochyta pisi*. *Plant Physiol.*, **40**, 808-812.

LINK H. F., 1816. — Observationes in ordines plantarum naturales. *Gesselschaft Naturforschender Freunde zu Berlin*, Magazin 7.

LITTELFIELD L. J. & BRACKER C. E., 1971. — Ultrastructure of septa in *Melampsora lini*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **56**, 181-188.

LOEW E., 1869. — Zur Entwicklungsgeischichte von *Penicillium*. *Jb. wiss. Bot.*, Vff, 472-508.

LOWRY R. J. & SUSSMAN A. S., 1966. — Intrahyphal hyphae in « clock » mutants of *Neurospora*. *Mycologia*, **58**, 541-548.

LOWRY R. J., DURKEE T. L. & SUSSMAN A. S., 1967. — Ultrastructural studies of microconidium formation in *Neurospora crassa*. *J. Bacteriol.*, **94**, 1757-1763.

LUFT J. H., 1956. — Permanganate : a new fixative for electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, 799-801.

MADELIN M. F., 1966. — « The fungus spore ». *Colston Papers*, n° 18, Butterworths, ed. Londres.

MADELIN M. F., 1979. — An appraisal of the taxonomic significance of some different modes of producing blastic conidia. *In* « *The whole fungus* », 1, Kendrick B. ed., Nal. Museum Canada Pub.

MAHADEVAN P. R. & TATUM E. L., 1967. — Localisation of structural polymers in the cell wall of *Neurospora crassa*. *J. Cell. Biol.*, **35**, 295-302.

MAHADEVAN P. R. & MAMADKAR U. R., 1970. — Role of enzymes in growth and morphology of *Neurospora crassa* : celle wall bound enzymes and their possible role in branching. *J. Bacteriol.*, **101**, 941-947.

MALLOCH D. & CAIN R. F., 1972. — The Trichocomataceae : Ascomycetes with *Aspergillus*, *Paecilomyces* and *Penicillium* imperfect states. *Canad. J. Bot.*, **50**, 2613-2628.

MANGENOT F. & REISINGER O., 1976. — Form and function of conidia as related to their development. *In* « *Fungal spore, form and fonction* », Weber and Hess ed., Wiley and Sons, New York.

MARCHANT R., 1975. — An ultrastructural study of « phialospore » formation in *Fusarium culmorum* grown in continous culture. *Canad. J. Bot.*, **53**, 1978-1987.

MARCHANT R., 1978. — Wall growth during spore differenciation and germination. *In* « *Fungal wall and hyphal growth* », Burnett J. M. and Trinci A. P. J., *Camb. Univ. Press*.

MARCHANT R. & ROHARDS A. W., 1968. — Membrane-system associated with the plasmalemma of plant cell. *Ann. Bot.*, **32**, 457-471.

MARCHANT R. & SMITH D. G., 1967. — Wall structure and bud formation in *Rhodotorula glutinis*. *Arch. Mikrobiol.*, **58**, 248-256.

MASON E. W., 1933. — Annotated account of fungi received at the Imperial Mycological fnstitute. *List* 2, fasc. 2, 1-67.

MASON E. W., 1937. — Annotated account of fungi received at the fmperial Mycological fnstitute. List 2, fasc. 3, 68-99.

MOORE R. T., 1965. — The ultrastructure of fungal cells. *In* « *The Fungi* », Ainsworth G. C. and Sussman A. S., vol. 1, the fungal cell. Academic Press, New York, Londres.

MOORE R. T. & Mc ALEAR J. H., 1962. — Fine structure of mycota. VII, Observations on septa of Ascomycetes and Basidiomycetes. *Am. J. Bot.*, **49**, 86-94.

MORGAN-JONES G., NAG RAJ T. R. & KENDRICK W. B., 1972. — Conidium ontogeny in Coelomycetes. IV : Percurrently proliferating phialides. *Canad. J. Bot.*, **50**, 2009-2014.

NICOT J., 1976. A propos des anomalies de l'appareil conidien observées chez divers *Aspergillus*. *Bull. Soc. Myc. méd.*, **5**, 185-188.

NICOT J., 1977. — La systématique des champignons imparfaits : problèmes et perspectives. *Rev. de Mycol.*, **41**, 381-395.

NOVAES-LEDIEU M., JIMENEZ-MARTINEZ A. & VILLANUEVA J. R., 1967. — Chemical composition of byphal wall of Phycomycetes. *J. Gen. Microbiol.*, **47**, 237-245.

Source : MNHN, Paris

Ola'h G. M., 1972. — L'ontogénie sporale et l'ultrastructure de la paroi chez *Paecilomyces berlinensis*. *Canad. J. Microbiol.*, 1471-1475.

Ola'h G. M. & Reisinger O., 1974. — Étuda ultrastructurale et cytochimique de l'appareil sporifère chez *Phialophora richardsiae*. *Canad. J. Bot.*, **52**, 2473-2480.

Oliver P. T. P., 1972. — Conidiophore snd spore development in *Aspergillus nidulans*. *J. Gen. Microbiol.*, **73**, 45-54.

Oulevey-Matikian N. et Turian G., 1968. — Contrôle métabolique et aspects ultrastructuraux de la conidiation (macro-microconidies) de *Neurospora crassa*. *Arch. Mikrobiol.*, **60**, 35-58.

Pock-Steen B. & Kobayasi T., 1970. — Ultrastructure of the hyphal wall and septum of *Trichophyton mentagrophytes*. *J. Invest. Dermato.*, U.S.A., **55**, 404-409.

Poulain D., Tronchin G., Dubremetz J. F. & Biguet J., 1978. — Ultrastructure ol the cell wall of *Candida albicans* blastospores : study of its constitutive layers by the use of a cytochemical technique revealing polysaccharides. *Ann. Microbiol.* (*Inst. Past.*), 141-153.

Raper K. B. & Fennell D. I., 1965. — The genus *Aspergillus*. Williams and Wilkins. Baltimore.

Reisinger O., 1972. — Contribution à l'étude ultrastructurale de l'appareil sporifère chez quelques Hyphomycètes à paroi mélanisée. Thèse Fac. Sci. Nancy.

Reynolds E. S., 1963. — Tbe use of lead citrate at high pH in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, **17**, 208-212.

Robertson N. F., 1959. — Experimental control of hyphal branching and branch lorm in hyphomycetous fungi. *J. Linn. Soc. Bot.*, **56**, 207-211.

Roquebert M. F., 1973. — Modalités de la sporogenèse chez deux phialidés : *Aspergillus tamarii* Kita et *Stilbothamnium nudipes* Haum. *Rev. de Mycol.*, **38** 3-8.

Roquebert M.-F., 1975. — Formation des cellules sporogènes chez *Aspergillus tamarii* Kita. *C. R. Acad. Sc. Paris*, T. 280, 169-171.

Roquebert M.-F., 1976. — Données récentes sur l'ontogénie des phislospores. *Rev. de Mycol.*, **41**, 207-221.

Roquebert M.-F., 1978. — Conidiogenèse et conidies chez *Spegazzinia tessarthra* (Berk. et Curt.) Sacc. *Rev. de Mycol.*, **42**, 309-320.

Roquebert M.-F., 1981. — Influence de l'état pbysique du milieu ambiant, sur ls structure pariétala des champignons conidiens. Sous presse.

Roquebert M.-F. & Abadie M., 1972. Étude ultrastructurale de la sporogenèse chez un micromycète : *Stilbothamnium nudipes*. *C. R. Ac. Sci.*, **276**, 2883-2885.

Roquebert M. F. & Fayret J., 1981. — *Marssoniella juglandis* (Lib.) Hónel emend Roquebert et Fayret, anamorphe de *Gnomania leptostyla* (Fr.) Ces. et de Not. *Canad. J. Bot.*, sous presse.

Saccaro P. A., 1886. — Hyphomycetaceae. *Sylloge Fungorum*, **4**, 1-807.

Scherwitz C., Martin R. & Uebereng H., 1978. — Ultrastructural investigations ol the formation ol *Candida albicans* germ tubes and septa. *Sabouraudia*, **16**, 115-124.

Schrantz J. P., 1970. — Étude cytologique en microscopie optique et électronique de quelques Ascomycètes. II. la paroi. *Rev. Cytol. Biol. Veg.*, **33**, 11-168.

Sekiguchi J., Gaucher G. M. & Costerton J. W., 1975. — Microcycle conidiation in *Penicillium urticae* : an ultrastructural investigation of spherical spore growth. *Canad. J. Microbiol.*, **21**, 2048-2058.

Shatkin A. G. & Tatum E. L., 1959. — Electron microscopy of *Neurospora crassa* mycelia. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **23**, 426.

Smith J. E., 1977. — Asexual sporulation in filamentous fungi. In « *The filamentous fungi* » III, Smith J. E. Berry D. R., Arnold Ed., London.

Subramanian C. V., 1971. — The phialide. *In «Taxonomy of Fungi Imperfecti »* ; Kendrick B. ed. Univ. Toronto, Press., 92-119.

Subramanian C. V., 1972. — Conidial chains, tbeir nature and significance in the tsxonomy ol Hyphomycetes. *Curr., Sc.*, **20**, 43-49.

Tanaka K. & Yanagita T., 1963. — Electron microscopy ol ultrathin sections ol *Aspergillus niger*. II fine structure ol the conidia bearing apparatus. *J. Gen. Appl. Microbial.*, **9**, 189-203.

Tanaka K. & Chang S. T., 1972. — Cytoplasmic vesicles in the growing hyphaa ol the Basidiomycete *Volvariella volvacea*. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **16**, 165-179.

Source : MNHN, Paris

Terracina F. C., 1974. — Fine structure of the septum in *Wallemia sebi*. *Canad. J. Bot.*, **52**, 2587-2590.

Thiéry J. P., 1967. — Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscopie*, **6**, 987-1018.

Thom C. & Raper K. B., 1945. — A manual of the *Aspergilli*. Williams and Wilkins, Baltimore.

Tokunaga M., Tokunaga J. & Harada K., 1973. — Scanning and transmission electron microscopy of sterigma and conidiospore formation in *Aspergillus* group. *J. electron Microsc.*, **22**, 27-38.

Trinci A. P. J., 1974. — A study of the kinetics of hyphal extension and branch initiation of fungal mycelia. *J. Gen. Microbiol.*, **81**, 225-236.

Trinci A. P. J., 1978. — The duplication cycle and branching in fungi. *In « Fungal walls and Hyphal growth »*, Burnett and Trinci ed., Cambridge Univ. Press, Cambrige.

Trinci A. P. J. & Collinge A. J., 1974. — Occlusion of the septal pores of damaged hyphae of *Neurospora crassa* by hexagonal crystals. *Protoplasma*, **80**, 57-67.

Trinci A. P. J. & Collinge A. J., 1975. — Hyphal wall growth of *Neurospora crassa* and *Geotrichum candidum*. *J. Gen. Microbiol.*, **91**, 355-361.

Trinci A. P. J., Peat A. & Banbury G. H., 1968. — Fine structure in *Aspergillus giganteus* Wehmer *Ann. Bot.*, **32**, 241-243.

Troy F. A. & Koffler H., 1969. — The chemistry and molecular architecture of cell wall of *P. chrysogenum*. *J. Biol. Chem.*, **244** (20), 5563-5576.

Tubaki K., 1963. — Taxonomic study of Hyphomycetes. *Ann. Rep. Inst. Ferment, Osaka*, **1**, 25-54.

Turian G., 1969. — Différenciation fongique. Éd. Masson.

Turian G., 1974. — Relation entre ultrastructure et fonction lors de la différenciation apicale d'hyphes fongiques sporogènes. *Bull. Soc. Linn., Lyon*, **43**, 432-447.

Turian G. & Oulevey N., 1968. — Reticulum endoplasmique et progression centripète du septum interconidien chez un mutant morphologique de *Neurospora crassa*. Experientis, **24**, 733-734.

Vaies G. A. de, 1952. — Contribution to the knowledge of the genus *Cladosporium* Link ex Fr. *Thesis, Baarn, Hollande*.

Vuillemin P., 1910*a*. — Les conidiosporés. *Bull. Soc. Sci. Nancy*, série 3, **11**, 1-44.

Vuillemin P., 1910*b*. — Matériaux pour une classification rationnelle des *Fungi Imperfecti*. *C. R. Acad. Sc.*, **150**, 882-884.

Vuillemin P., 1911. — Les aleuriosporés. *Bull. Soc. Sci. Nancy*, série 3, **12**, 151-175.

Vujicic R. & Muntanjola-Cvetkovic M., 1973. — A comparative ultra-structural study on conidium differenciation in the *Cladosarum* like mutant 22 B of *Aspergillus aureolatus*. *J. Gen. Microbiol.*, **79**, 45-51.

Wang C. J. K., 1979. — Pleomorphic *Fungi Imperfecti*. *In « The Whole Fungus »*, I, Kendrick B., ed. Ottawa.

Willets H. J. & Calonge F. D., 1969. — Spore development in the brown rot fungi (*Sclerotinia* spp.). *New Phytol.*, **68**, 123-131.

Zachariah K. & Fitz-James P. C., 1967. — The structure of phialides in *Penicillium claviforme*. *Canad. J. Microbiol.*, **13**, 249-256.

Zeidler G. & Margalith P., 1972. — Synchronized sporulation in *Penicilium digitatum* Sacc. *Canad. J. Microbiol.*, **18**, 1685-1690.

Zaidler G. & Margalith P., 1973. — Modification of sporulation cycle in *Penicillium digitatum*. *Canad. J. Microbiol.*, **19**, 481-483.

Distribué le 15 février 1982.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

PLANCHES

Source : MNHN, Paris

Les contrastants généralement utilisés sont l'acétate d'uranyle suivi du nitrate de Plomb. Les techniques spéciales seront précisées au fur et à mesure de leur emploi.

Les observations réalisées au microscope électronique à transmission seront indiquées par la mention M.E.T., au microscope électronique à balayage par M.E.B. et au microscope photonique par M.P.

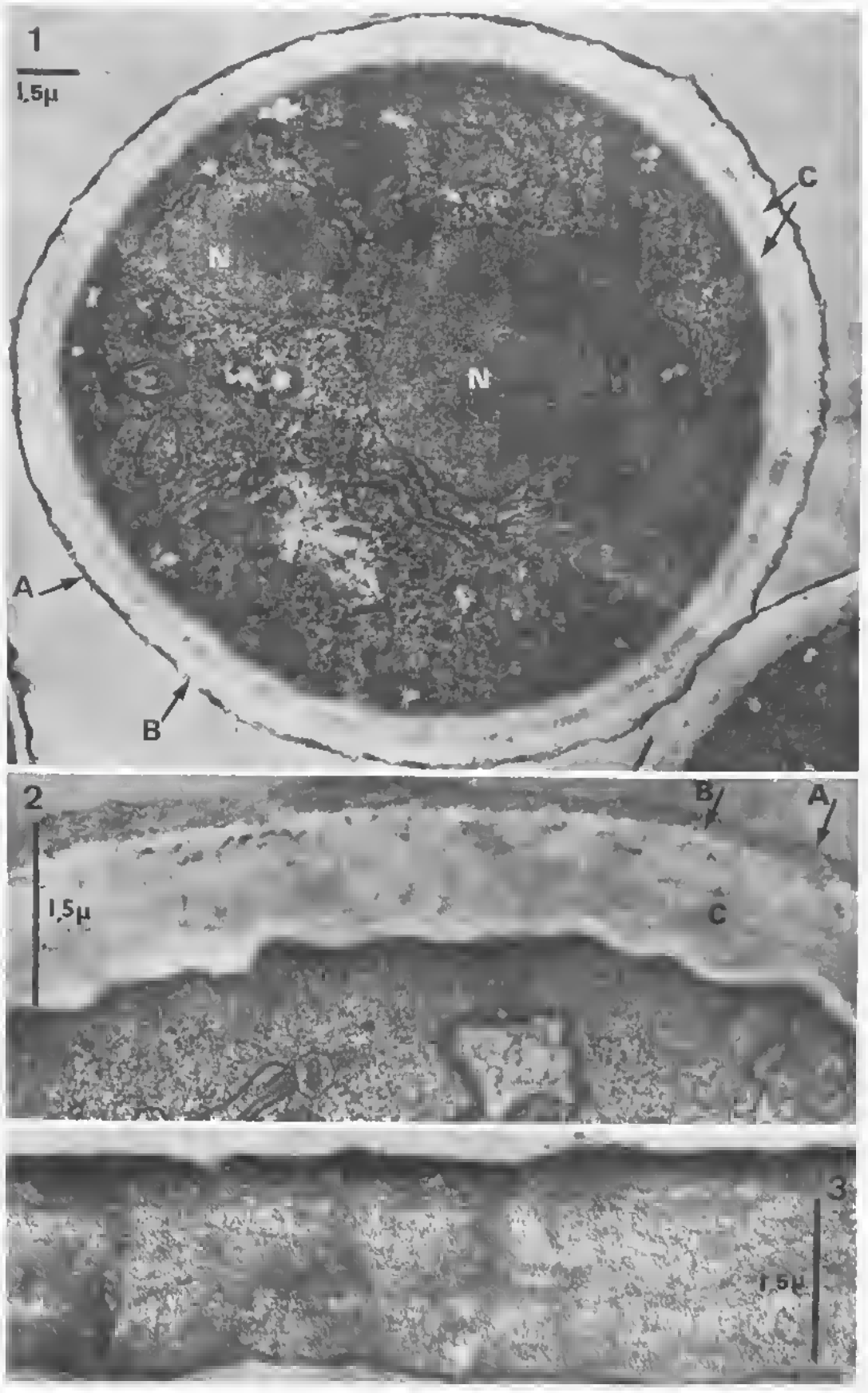
PLANCHE I.

Structure de la paroi hyphale M.E.T.

Fig. 1 et 2. — Coupes transversales dans une hyphe de *Stilbothamnium nudipes*. On y distingue les couches périphériques A et B et la couche fondamentale C, elle-même constituée d'une partie externe uniforme et d'une interne qui épouse les indentations du plasmalemme.

Fig. 3. — Coupe longitudinale dans une hyphe d'*Aspergillus nanarii* où l'on peut observer nettement la nature fibrillaire des constituants fondamentaux de la paroi.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 2.

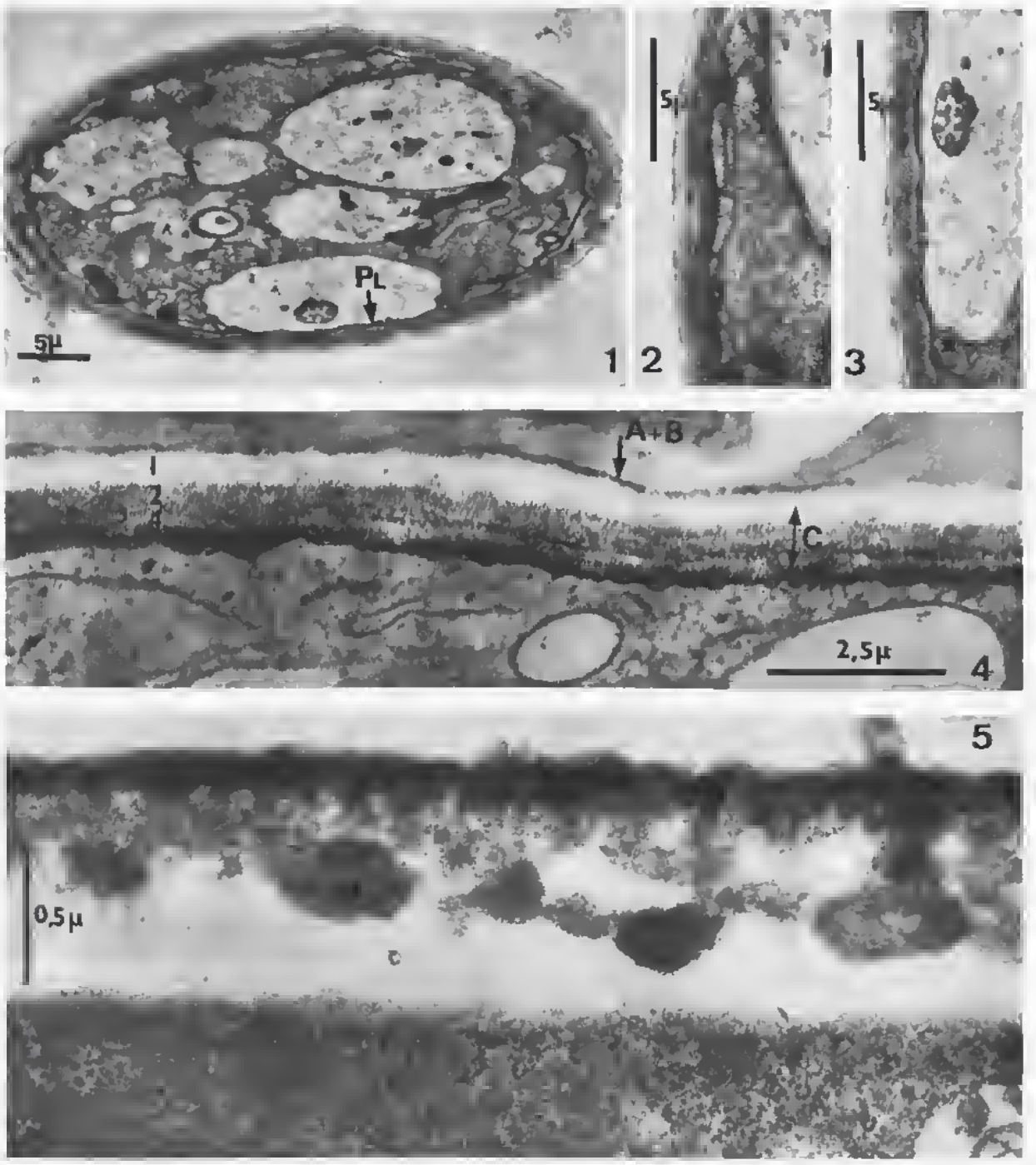
Structure de la paroi hyphale. Mise en évidence des polysaccharides. M.E.T.

Fig. 1, 2 et 3. — Coupes transversales dans une hyphe âgée de *Aspergillus tamarii*. Coloration de THIERY. On peut observer la superposition de strates concentriques de composition plus ou moins riche en polysaccharides (coloration sombre des substances réagissantes). Les plus internes sont appliquées au plasmalemme (Pl) et ondulées, tandis que les plus externes ont un contour régulier.

Fig. 4. — Coupe longitudinale. Coloration de THIERY. On constate la même disposition concentrique des strates montrant une réactivité globalement croissante vers l'intérieur de la couche C.

Fig. 5. — Paroi hyphale mélanisée chez *Cladosporium herbarum*. La texture fibrillaire de la couche C est nettement visible à la face interne. Vers l'extérieur elle est masquée par la présence de granules mélaniques (M) qui s'enfoncent profondément dans l'épaisseur de la paroi.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 3.

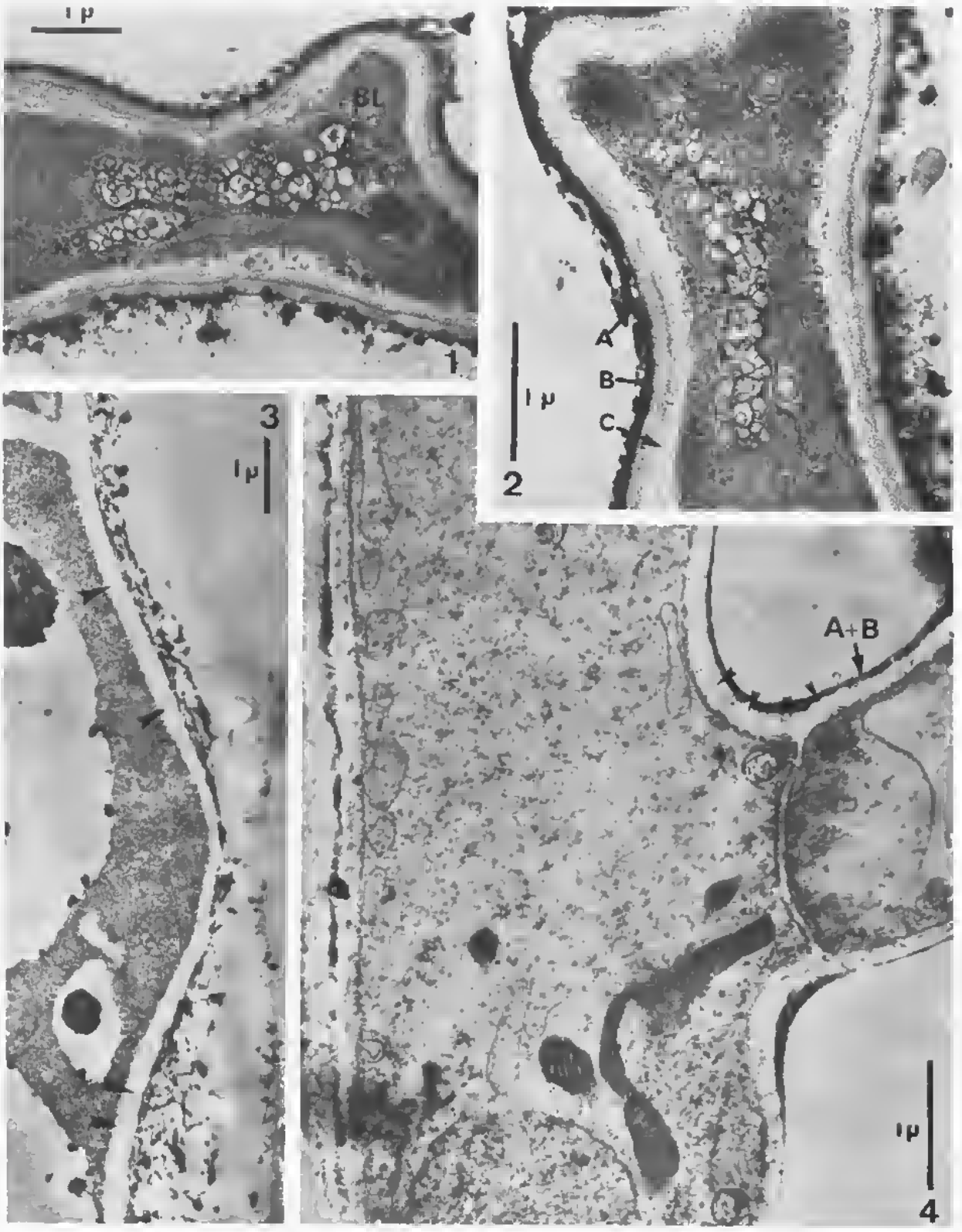
Initiation des rameaux latéraux M.E.T.

FIG. 1 et 2. — *Cladosporium cladosporioides*. Autour du bourgeon latéral se développe une strate fibrillaire interne de C. qui l'entoure et progresse avec lui.

FIG. 3. — *Aspergillus tamarii*. Une strate interne de la couche fondamentale commence à être identifiable autour de la protubérance latérale.

FIG. 4. — Stade plus avancé de ramification. Les composants externes sont reconstitués autour de la paroi du rameau. L'origine endogène de cette paroi est soulignée par des têtes de flèches.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 4

Structure des cloisons hyphales M.E.T.

Fig. 1. — *Stilbothamnium nudipes*. On peut observer la continuité entre une strate interne de la couche fondamentale C et le septum transverse (têtes de flèches). À l'intérieur de celui-ci on distingue une zone médiane plus claire qui s'élargit latéralement en triangle, au contact des rondles latérales. Présence de corps hexagonaux (C.h) au voisinage du pore.

Fig. 2. — *Aspergillus tanarii*. Coloration de THIERY. Le septum apparaît dépourvu de polysaccharides réagissants. Le raccordement latéral avec une couche pariétale de même nature est, ici encore visible. Le glycogène (Gly) est abondant dans le cytoplasme, au voisinage du plasmalemme.

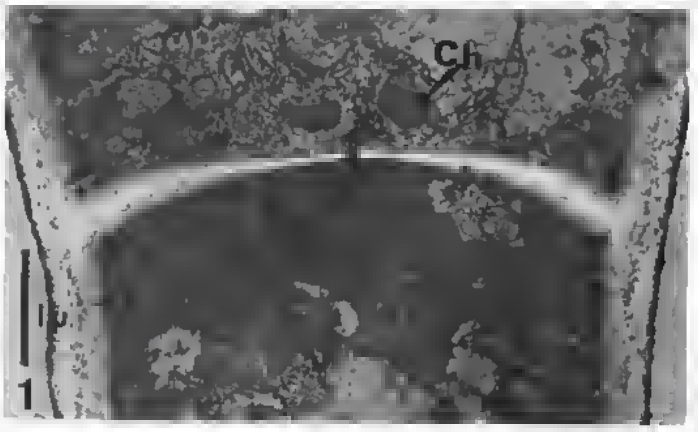
Fig. 3. — Structure du septum en coloration ordinaire.

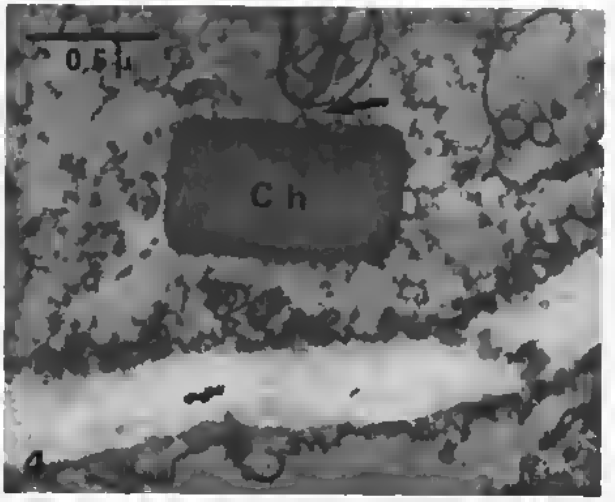
Fig. 4. — *Stilbothamnium nudipes*. Détail d'un corps hexagonal. On observe nettement autour de ce corpuscule une enveloppe membranaire sans doute en continuité avec la vésicule située au dessus (flèche).

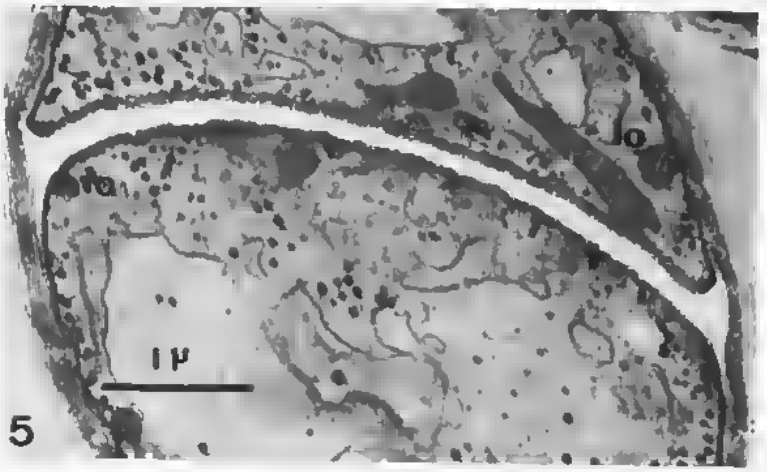
Fig. 5. — Coloration de THIERY, soulignant les lumasomes nombreux au contact du plasmalemme.

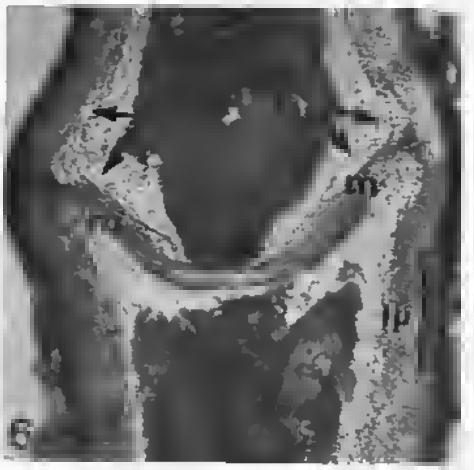
Fig. 6. — *Cladosporium herbarum*. Mycélium dématié. On observe la continuité des fibrilles entre la paroi et le septum (flèches). Un îlôt de mélanisation (m) se produit de part et d'autre du sillon médian qui reste agrémenté jusque dans les triangles latéraux.

Source : MNHN, Paris









Source : MNHN, Paris

PLANCHE 5.

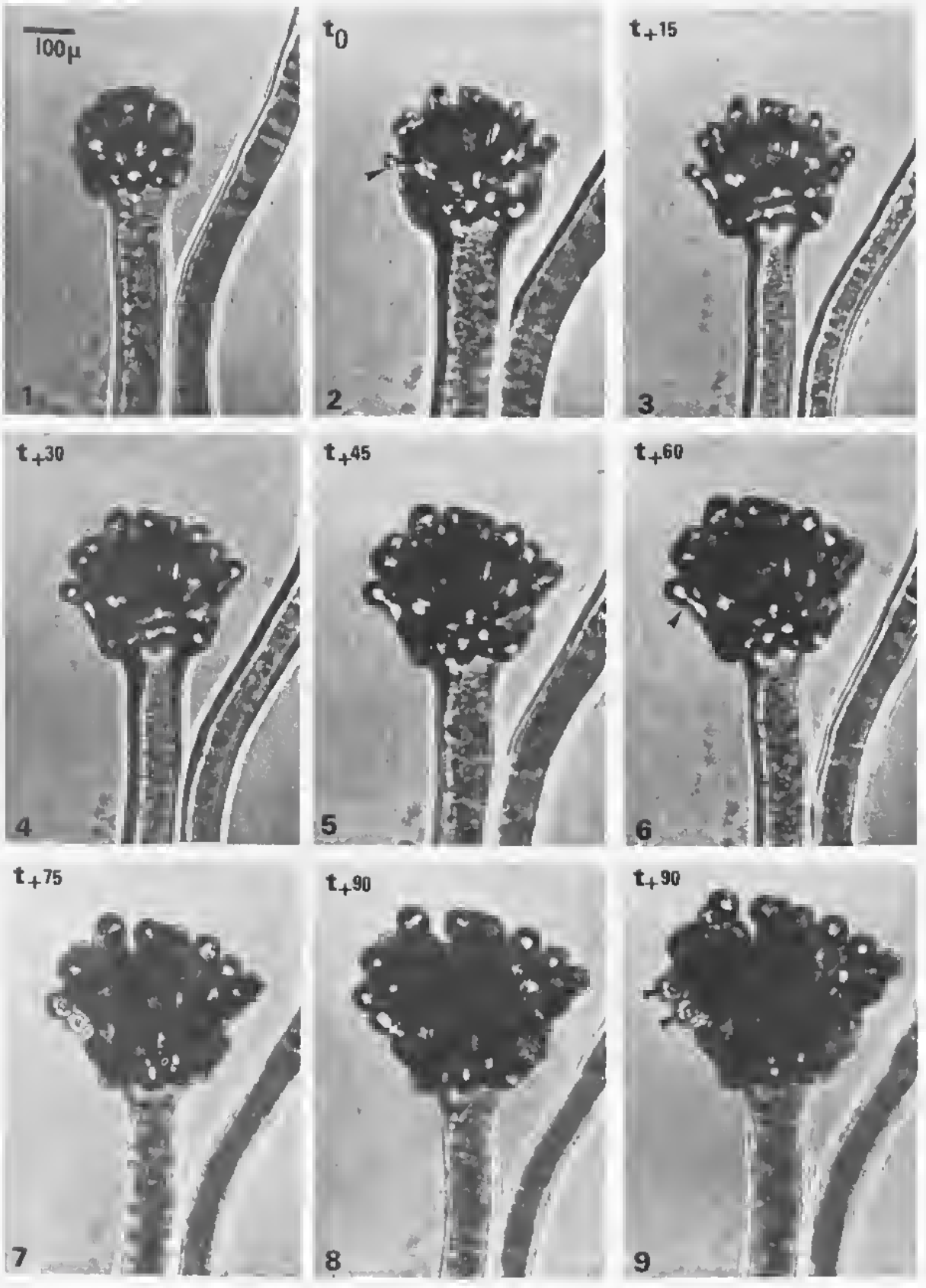
Observation chronologique du fonctionnement des cellules conidiogènes de Aspergillus tamarii M.P.

Fig. 1. — Formation des phialides au sommet de l'ampoule.

Fig. 2. — Deux heures plus tard, début de formation de la première conidie choisie comme temps 0. Les figures 3, 4 et 5 ont été réalisées toutes les 15 minutes. En 6 (t + 60′), initiation de la deuxième conidie (flèche) dont le développement se prolonge jusqu'en 8 (t + 90′).

Fig. 9. — Autre mise au point réalisée au temps t + 90′ montrant la paroi épaisse des conidies.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 6.

Différenciation des appareils conidiens de Stilbothamnium nudipes M.E.B.

Fig. 1. — Formation des bourgeons phialidiques à la surface de l'ampoule. On notera l'ornementation du conidiophore (C.p.) et les replis pariétaux qui unissent entre eux les bourgeons b.

Fig. 2. — Stade plus avancé de développement des phialides. En arrière-plan stade antérieur à celui de la photo n° 1. Les échinulations du conidiophore s'estompent sous la pression du renflement apical, ébauche de l'ampoule.

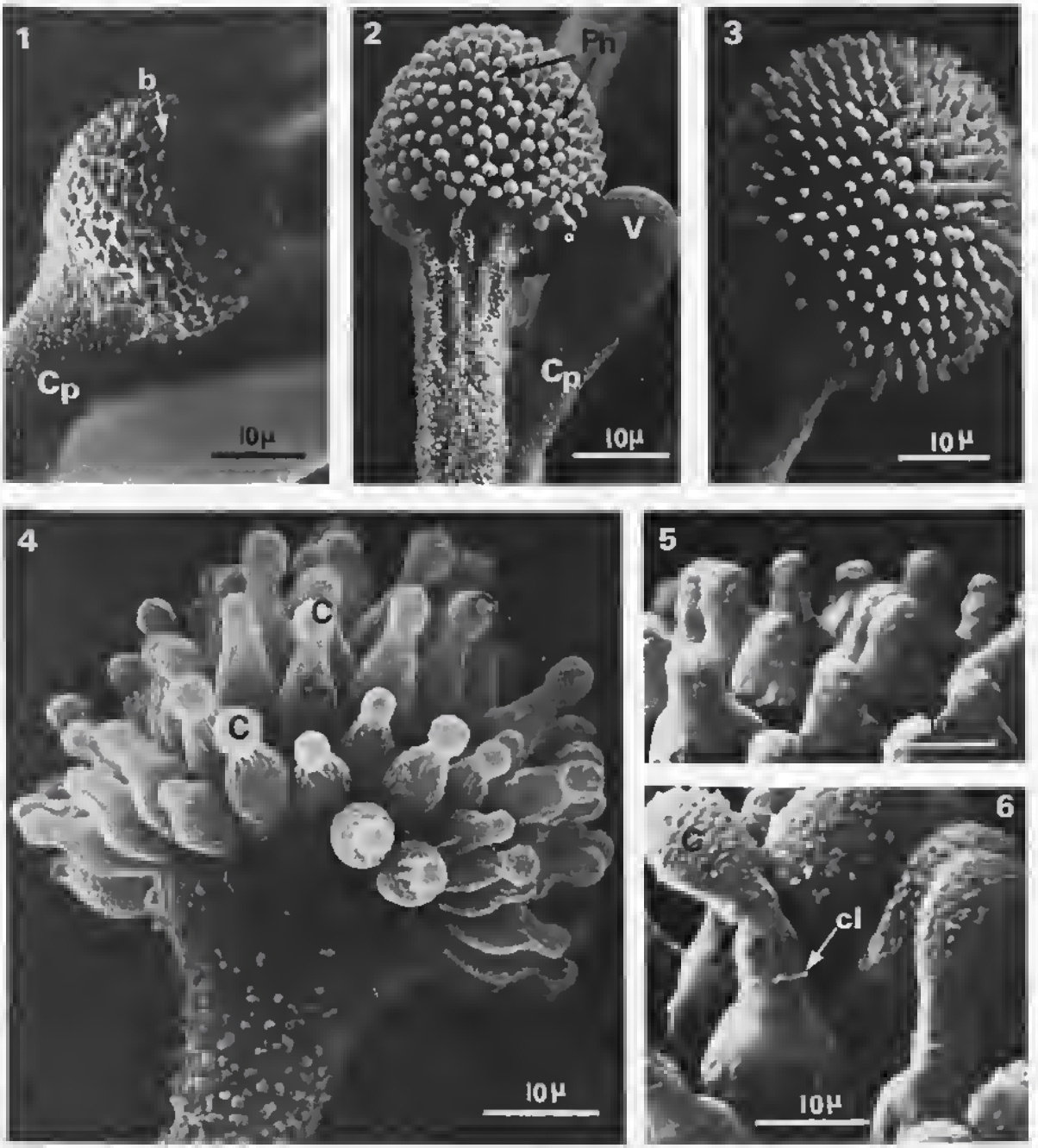
Fig. 3. — Formation des ébauches conidiennes.

Fig. 4. — Différenciation plus marquée de la première conidie C., au sommet de chaque phialide (Ph.) sans discontinuité dans la paroi commune.

Fig. 5. — Détail de 3. On notera la continuité pariétale très nette entre la cellule sporogène et la première spore (flèche).

Fig. 6. — Stade ultérieur où l'on peut observer sur chaque phialide, une conidie apicale ornementée séparée par une cloison (flèche) du bourgeon suivant encore lisse. La paroi de la phialide est rompue et forme une sorte de collerette (cl) à la base du bourgeon.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 7.

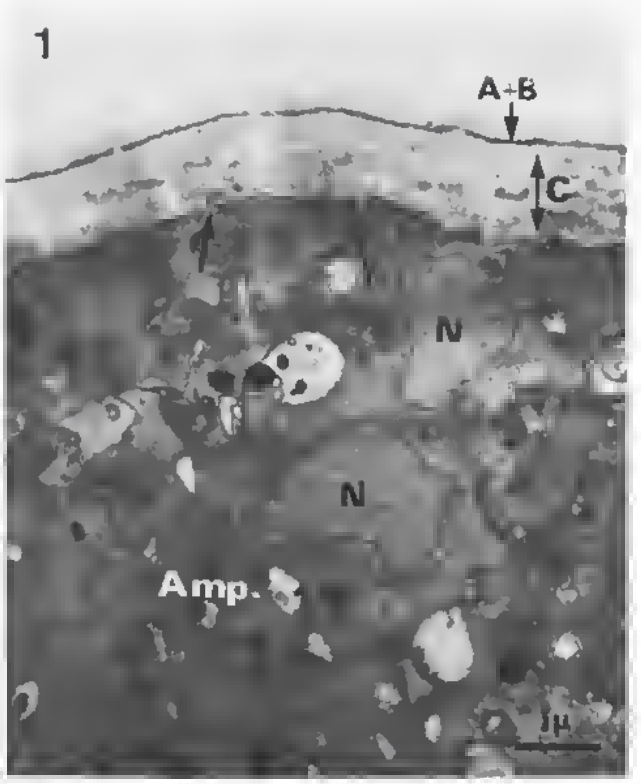
Formation des phialides à la surface de l'ampoule de Aspergillus tamarii M.K.T.

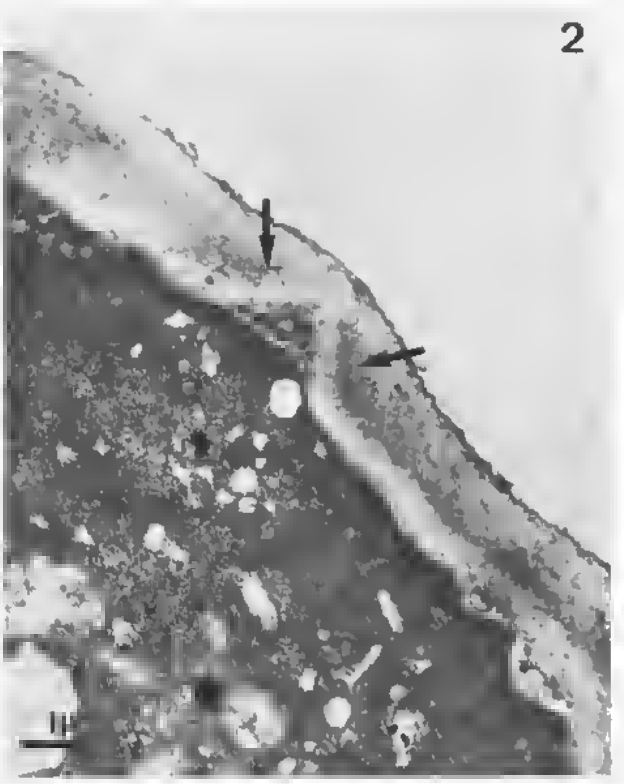
FIG. 1. — La paroi de l'ampoule (Amp.) considérablement épaissie, conserve ses strates constitutives A, B et C. Le cytoplasme forme des fossettes (flèches noires) emplies de vésicules (v) migrant vers la courbe la plus interne de la paroi. Coloration de THIERY.

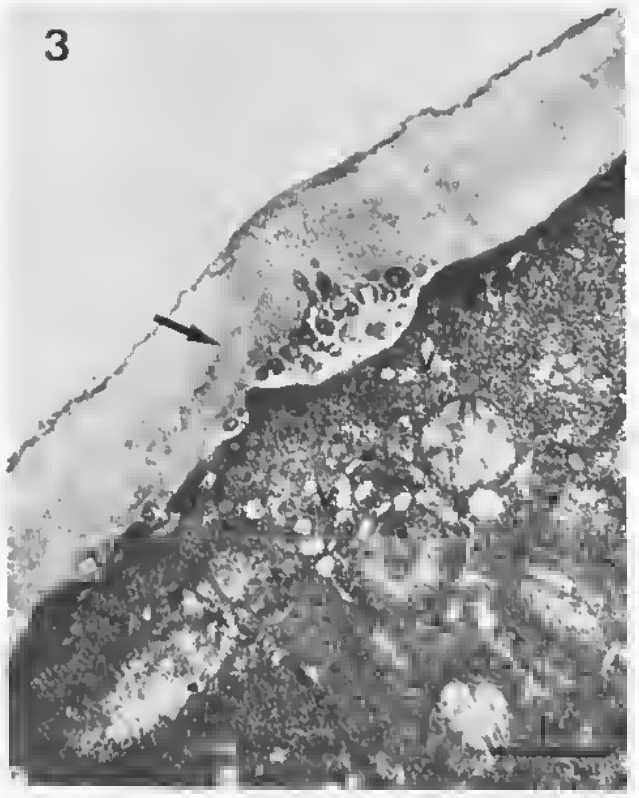
FIG. 2. — Plus tard, ces vésicules ont pris une disposition groupée en triangle et s'avancent plus profondément dans la paroi. Leur progression s'accompagne du mouvement de la couche pariétale interne qui les entoure (flèches).

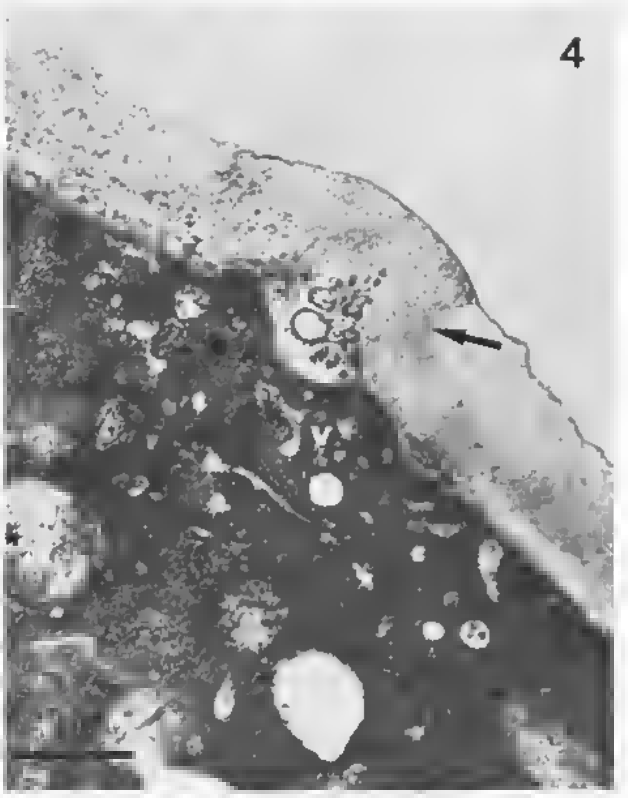
FIG. 3 et 4. — Le nombre des vésicules s'accroît, formant un petit massif entouré d'une paroi légèrement différenciée (flèches noires) qui s'avance dans la parot et cause un bombement externe. On notera, à la base de ces formations, l'afflux des vésicules cytoplasmiques.

Source : MNHN, Paris









Source : MNHN, Paris

PLANCHE 8.

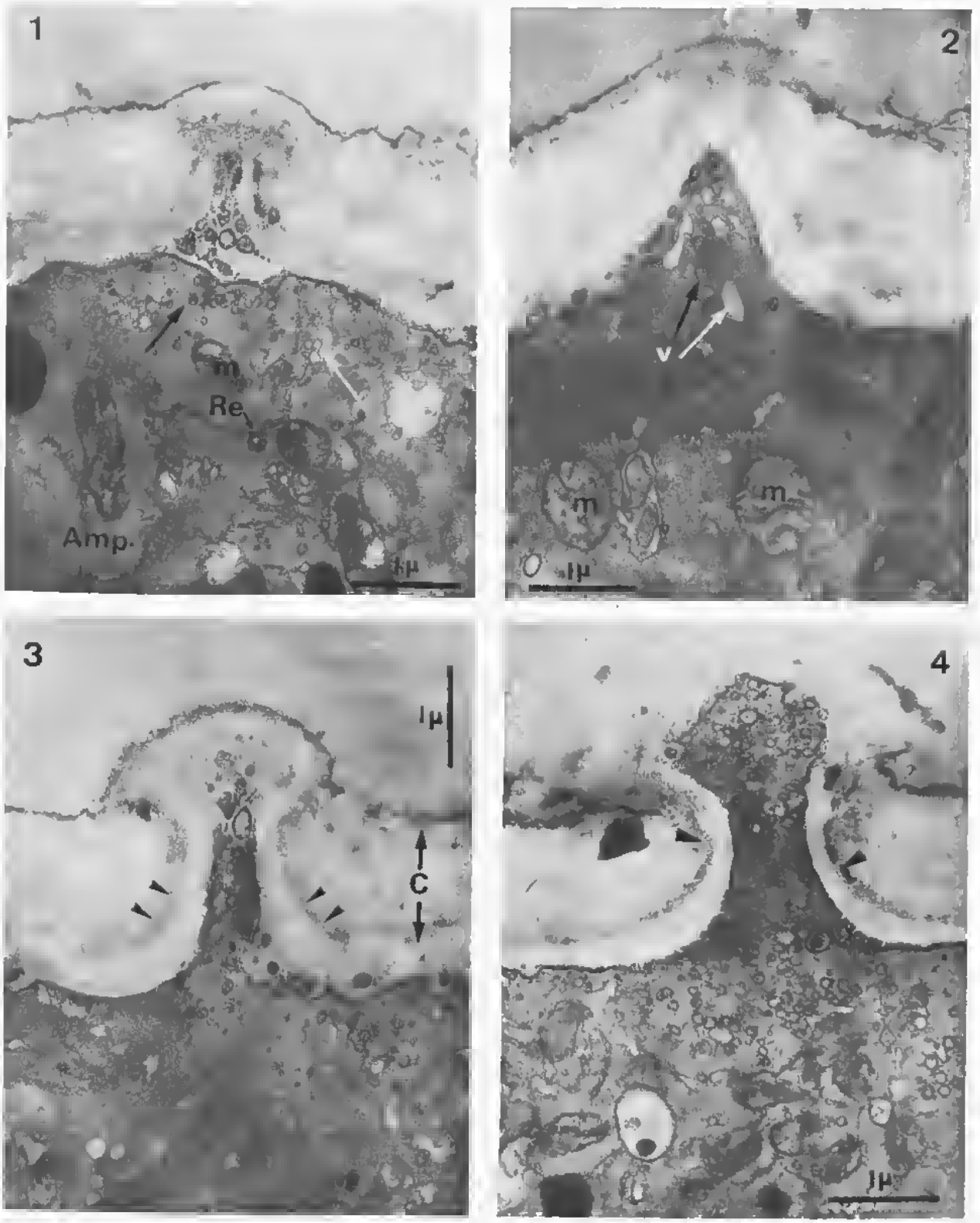
Formation des phialides de Aspergillus tamarii M.E.T.

Fig. 1. — Progression du massif vésiculaire à travers la paroi de l'ampoule (Amp.). Coloration de THIERY. La coloration spécifique des polysaccharides permet de distinguer deux sortes de vésicules (flèches noires et blanches) différant par leur contenu. R.e. : réticulum endoplasmique.

Fig. 2. — Le cytoplasme, à son tour, progresse à travers la paroi. Les vésicules restent très nombreuses et des mitochondries (m) se groupent à la base de ces formations. Coloration de THIERY.

Fig. 3 et 4. — Le bourgeon cytoplasmique fait saillie à l'extérieur. Il est entouré d'une paroi provenant de la base de la couche C de la paroi de l'ampoule (têtes de flèches). Le nombre croissant des vésicules cytoplasmiques suggère une activité enzymatique intense. Coloration de THIERY.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 9.

Formation des phialides de Aspergillus tamarii (fin) M.E.T.

Fig. 1 et 2. — Suite de la progression externe du bourgeon, qu'accompagne le flux de vésicules. Certaines d'entre elles libèrent leur contenu polysaccharidique à l'extérieur du plasmalemme (têtes de flèches), tandis que d'autres peuvent le traverser en conservant leur structure (flèches). Elles peuvent être groupées ou solitaires. Coloration de THIERY.

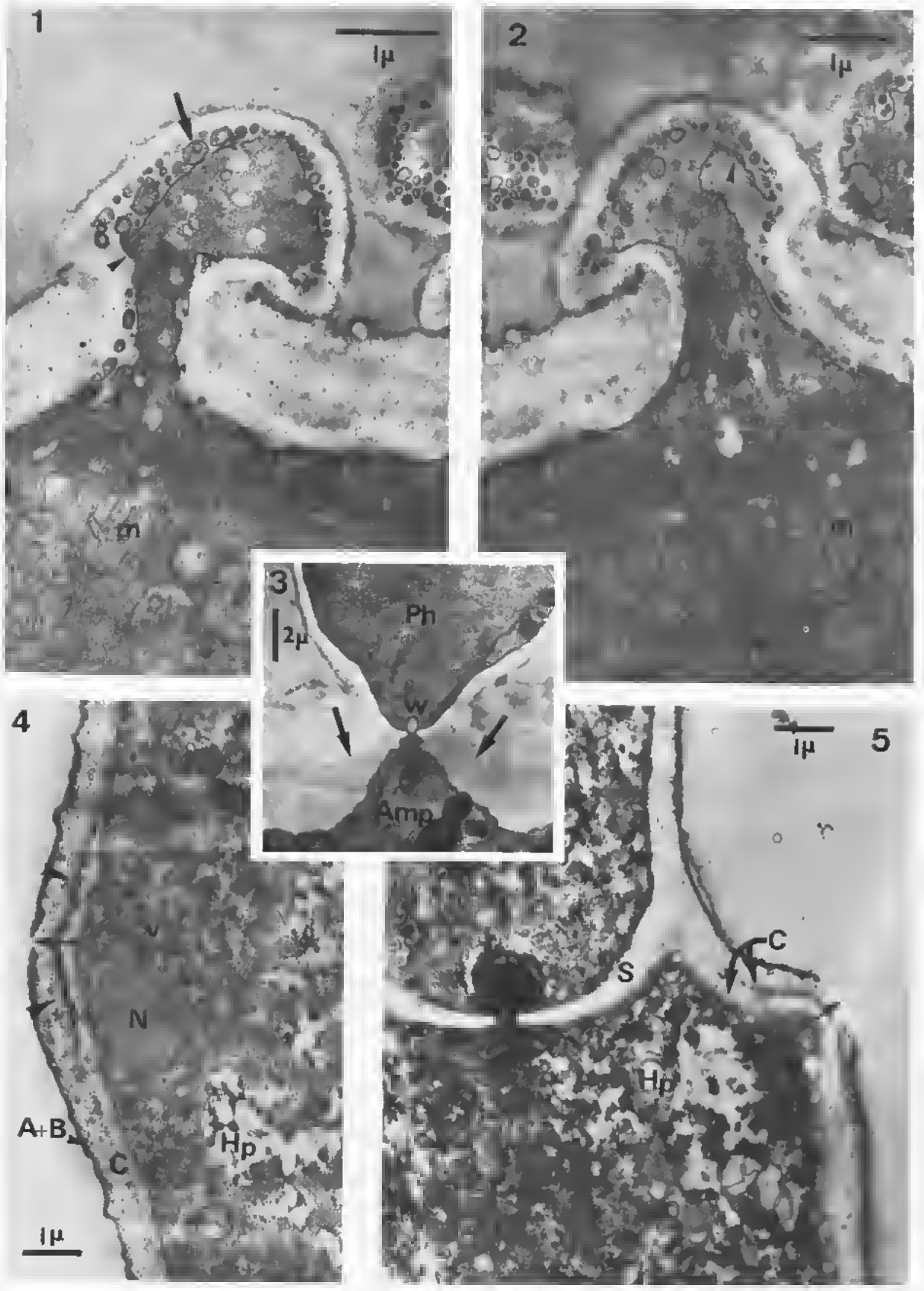
Fig. 3. — Base d'une phialide fonctionnelle séparée de l'ampoule par une cloison. W : corps de Woronine. On peut encore observer l'origine endogène de la paroi (flèches). Coloration de THIERY.

Fig. 4 et 5. — *Penicilliopsis dichotomus*.

Fig. 4. — Premier stade de formation des phialides latérales d'un verticille. Individualisation d'une strate interne (têtes de flèches) dans la paroi latérale de l'hyphe porteuse (H p). La pellicule externe A est rompue (flèche). On note la présence de vésicules cytoplasmiques (v) qui viennent fusionner avec le plasmalemme, et d'un volumineux noyau (N), à ce niveau.

Fig. 5. — La différenciation de la paroi du bourgeon latéral s'accentue. Sa progression vers l'extérieur (sens de la flèche) s'accompagne de la rupture des courbes externes (A, B et la partie externe de C) de la paroi de l'hyphe porteuse (H p).

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 10.

Formation de la première spore chez Aspergillus tamarii M.E.T.

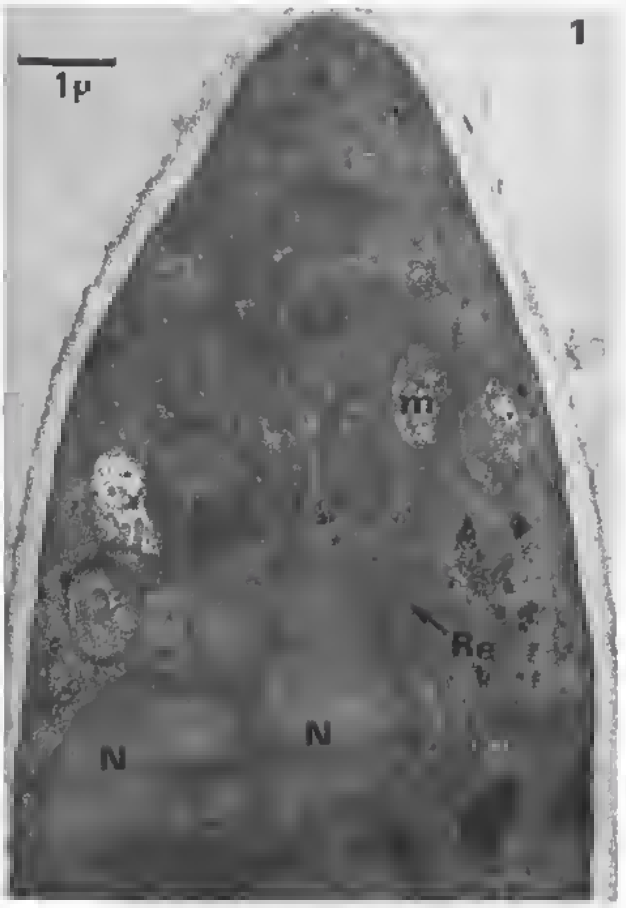
Fig. 1. — Sommet d'une phialide non fonctionnelle. On remarque la concentration apicale des vésicules cytoplasmiques puis les mitochondries en arrière et, enfin, les noyaux. Cette disposition rappelle celle d'un apex hyphal. Coloration de THIERY.

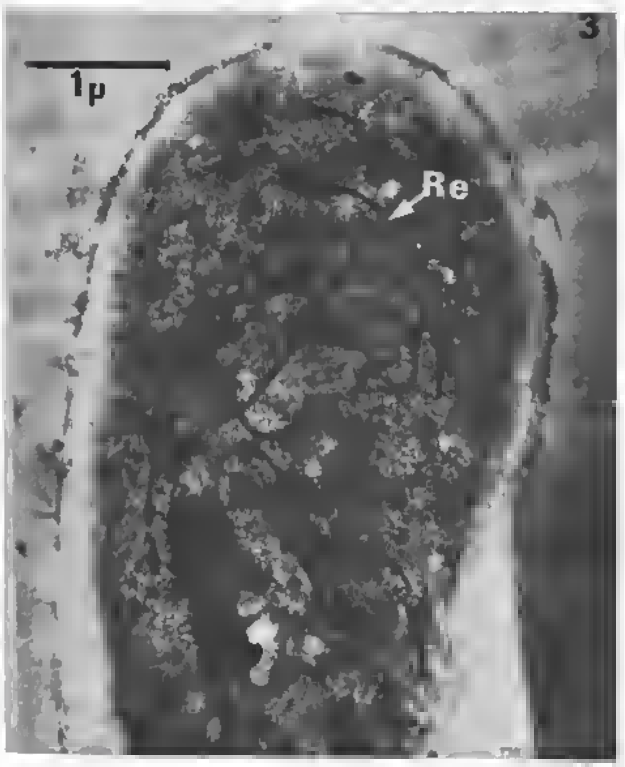
Fig. 2. — Début de différenciation de l'initiale conidienne. L'organisation cytoplasmique change. Le réticulum (Re) perd son orientation axiale et des groupes de vésicules peuvent être observés lieu en deçà de l'apex (têtes de flèches). Coloration de THIERY.

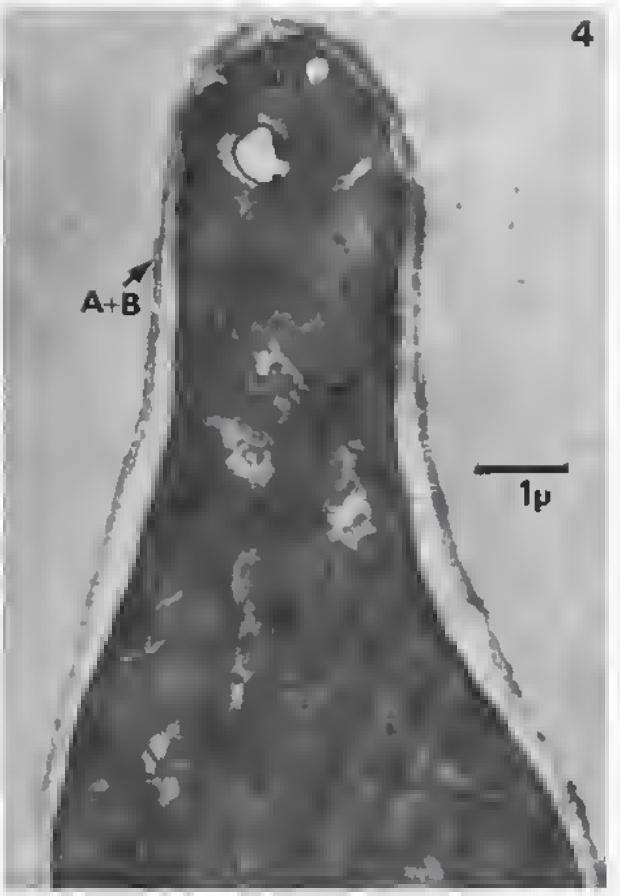
Fig. 3. — L'échinche conidienne s'arrondit et l'on peut y observer l'orientation circulaire des organites cytoplasmiques, des travées de réticulum principalement. MnOMK.

Fig. 4. — Autour du primordium conidien, la couche C se retrouve tandis que A et B ne sont pas encore constituées autour de l'apex. Coloration de THIERY.

Source : MNHN, Paris







Source : MNHN, Paris

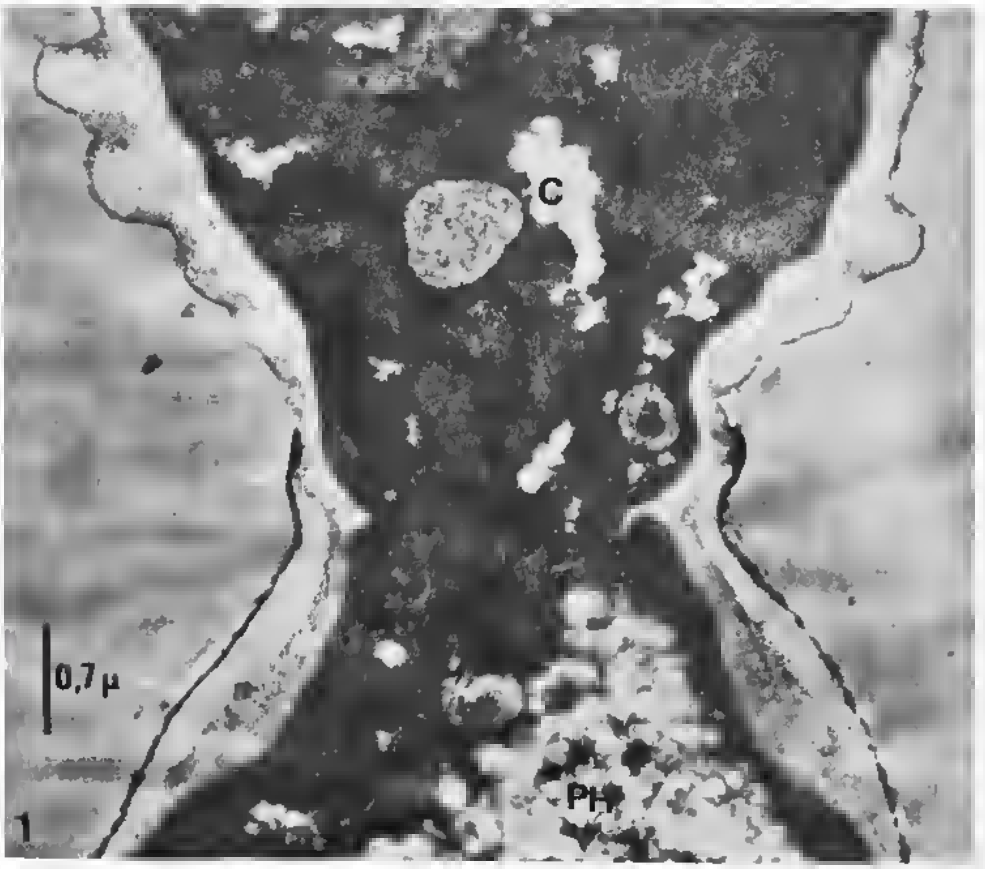
PLANCHE II.

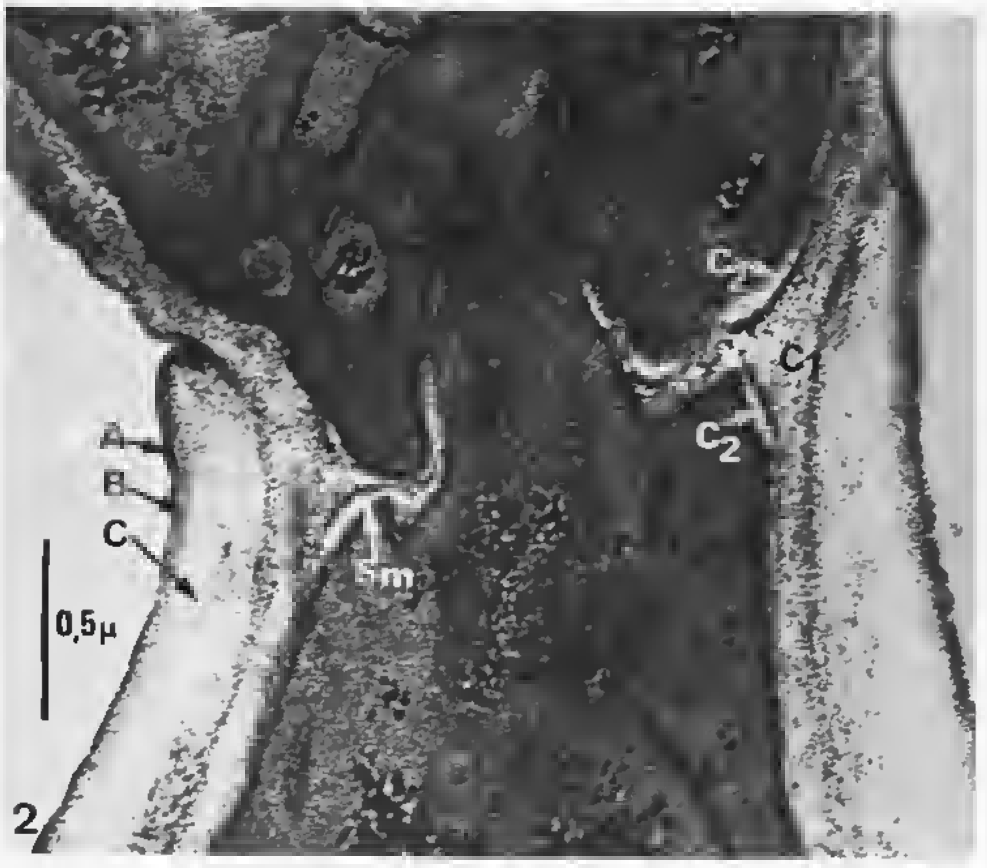
Conidiogenèse chez Aspergillus tamarii M.E.T.

Fig. 1. — Formation d'un septum de type hyphal entre la phialide et la conidie.

Fig. 2. — Les composants A, B et C sont encore visibles dans la paroi de la phialide. Différenciation du sillon médian (Sm) et de ses prolongements latéraux accompagnée du clivage longitudinal de la couche latérale C de la phialide, en C1 externe et C2 interne. Coloration de THIERY.

Source : MNHN, Paris





Source : MNHN, Paris

PLANCHE 12.

Différenciation du septum conidien chez Aspergillus tamarii M.E.T.

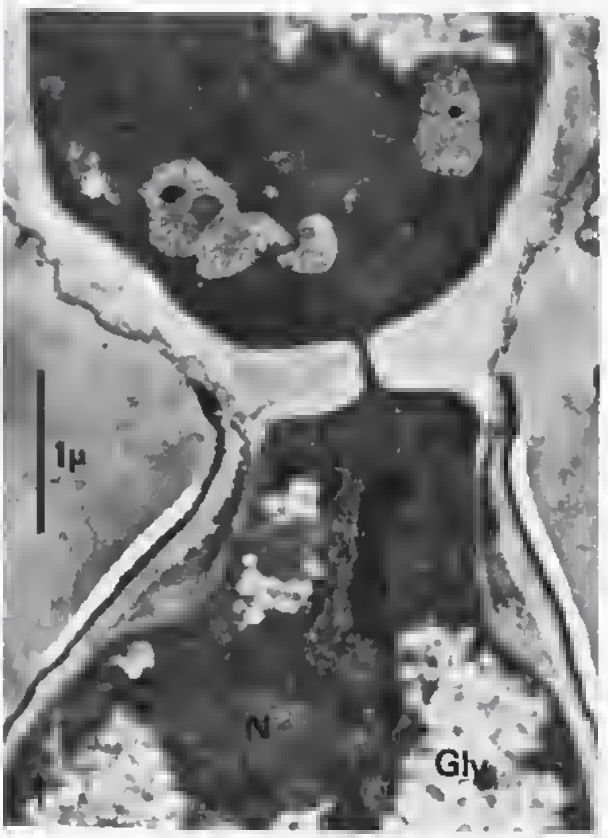
Fig. 1. — Épaississement du septum entre la phialide et la conidie. Gly : glycogène. Tout au long de sa différenciation le septum reste perforé.

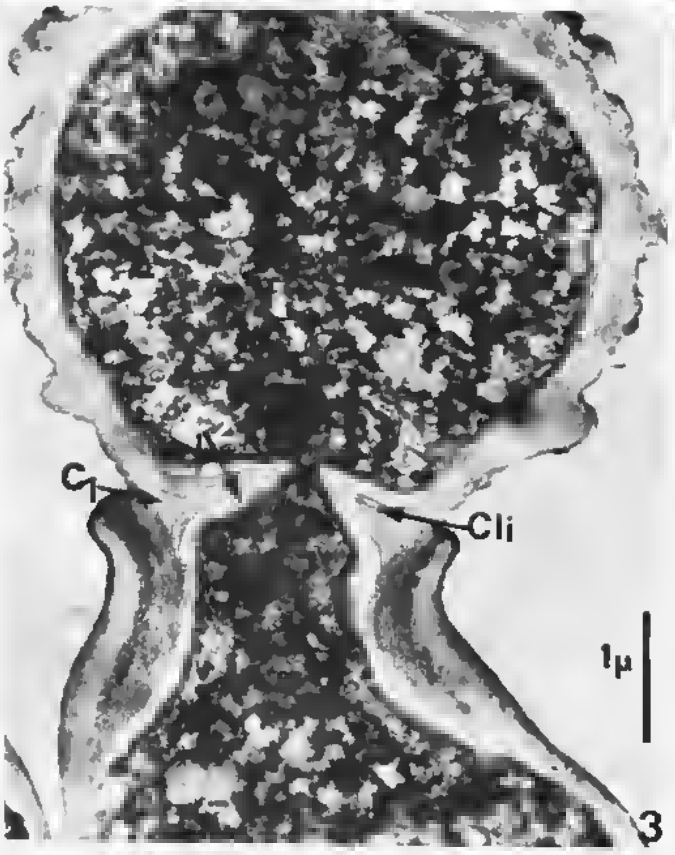
Fig. 2. — Début de différenciation d'une couche lamellaire (Cli) de part et d'autre du sillon médian au contact de C2. Coloration de THIERY.

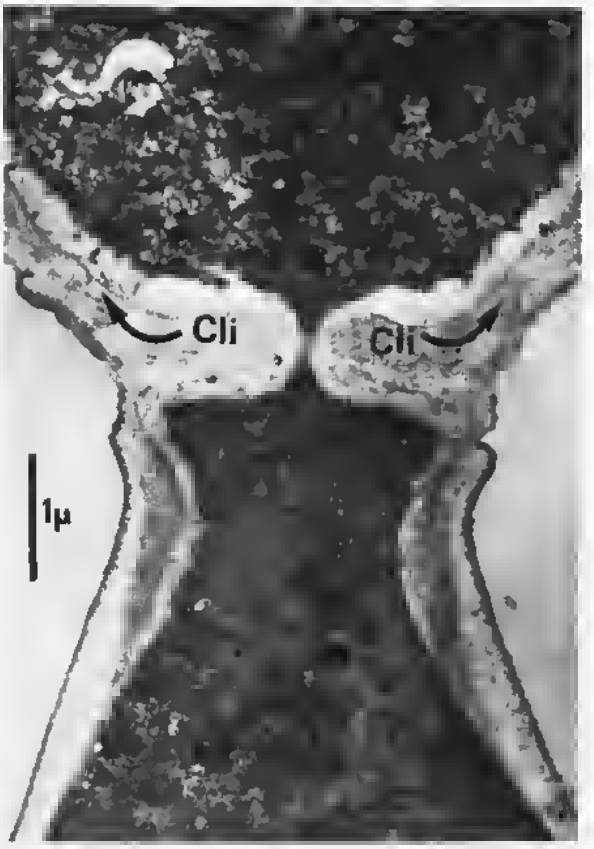
Fig. 3. — La couche lamellaire intermédiaire (Cli) est bordée des deux côtés, par les enveloppes C2 entourant la conidie distale et le bourgeon suivant. Latéralement elle repousse la strate C1 et les composants externes de la paroi fondamentale.

Fig. 4. — Stade plus avancé de différenciation de la couche lamellaire intermédiaire qui gagne l'enveloppe sporale (flèches).

Source : MNHN, Paris







Source : MNHN, Paris

PLANCHE 13.

Évolution du septum conidien au cours de la maturation sporale de Aspergillus tamarii M.E.T.

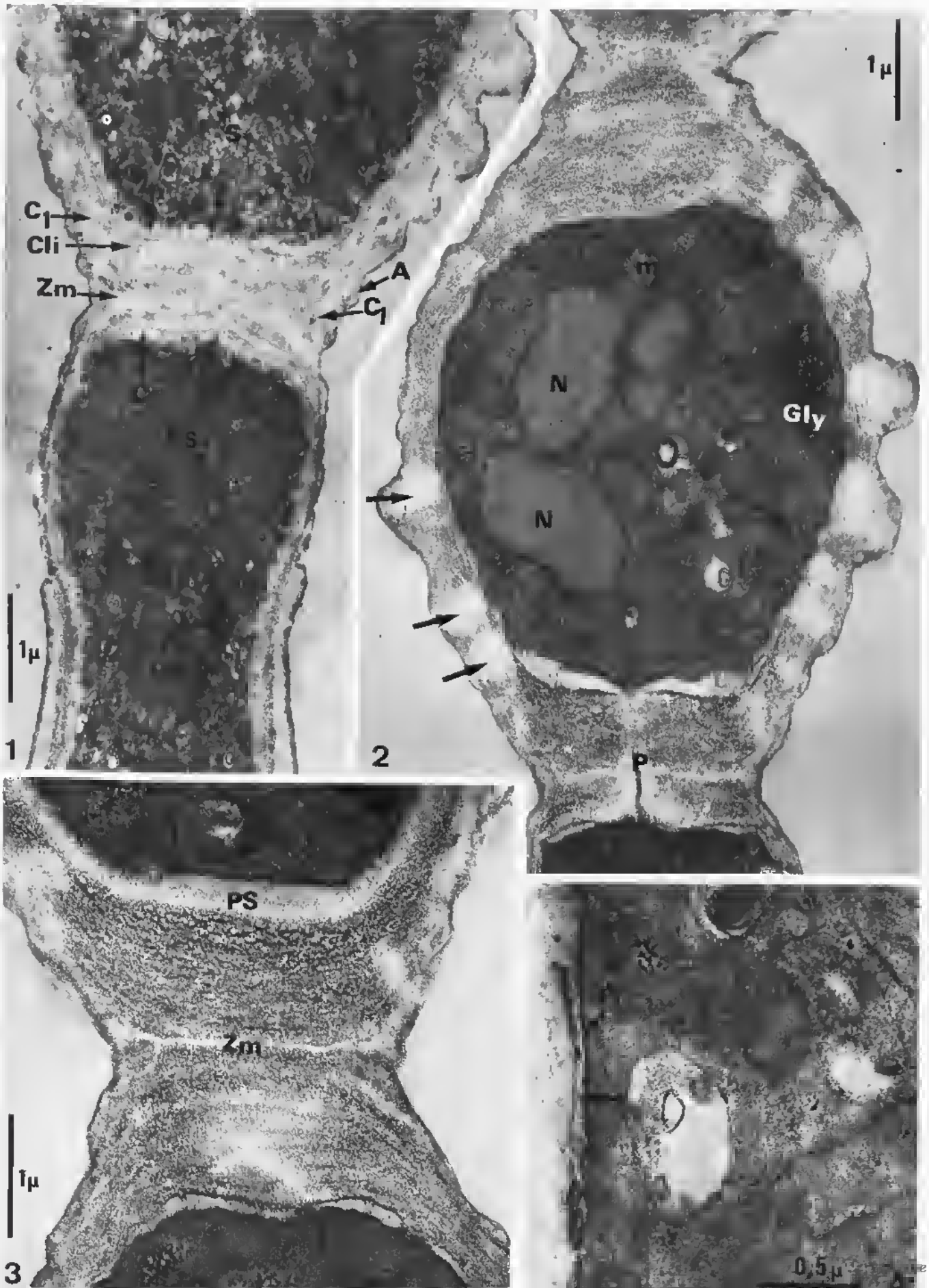
Fig. 1. — Structure du connectif unissant les conidies et le bourgeon suivant. On y distingue la pellicule externe A (+ B) et la couche C1. À l'intérieur de cette enveloppe commune se différencient les primordiums délimités par le plasmalemme, la couche C2 et la couche lamellaire intermédiaire (Cli), séparée par une zone médiane Zm. Coloration de THIERY.

Fig. 2. — Début de la lyse ponctuelle de la couche lamellaire intermédiaire (flèches). On note un pore septal (P) étiré entre deux conidies successives. Gly : glycogène. Coloration de THIERY.

Fig. 3. — Début de la différenciation de la paroi sporale (P s), à l'intérieur du connectif. La structure lamellaire et le sillon médian Zm persistent dans la cloison. Coloration de THIERY.

Fig. 4. — Détail de la formation d'une couche linéaire, fortement polysaccharidique (flèches), à l'extérieur du plasmalemme (Pl) de la spore. Coloration de THIERY.

Source : MNHN, Paris



...e : MNHN, Paris

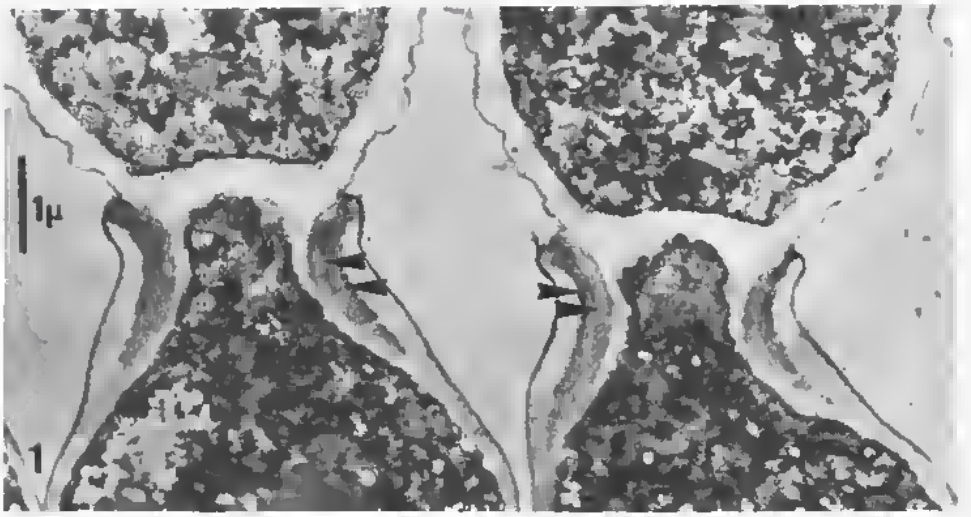
PLANCHE 14.

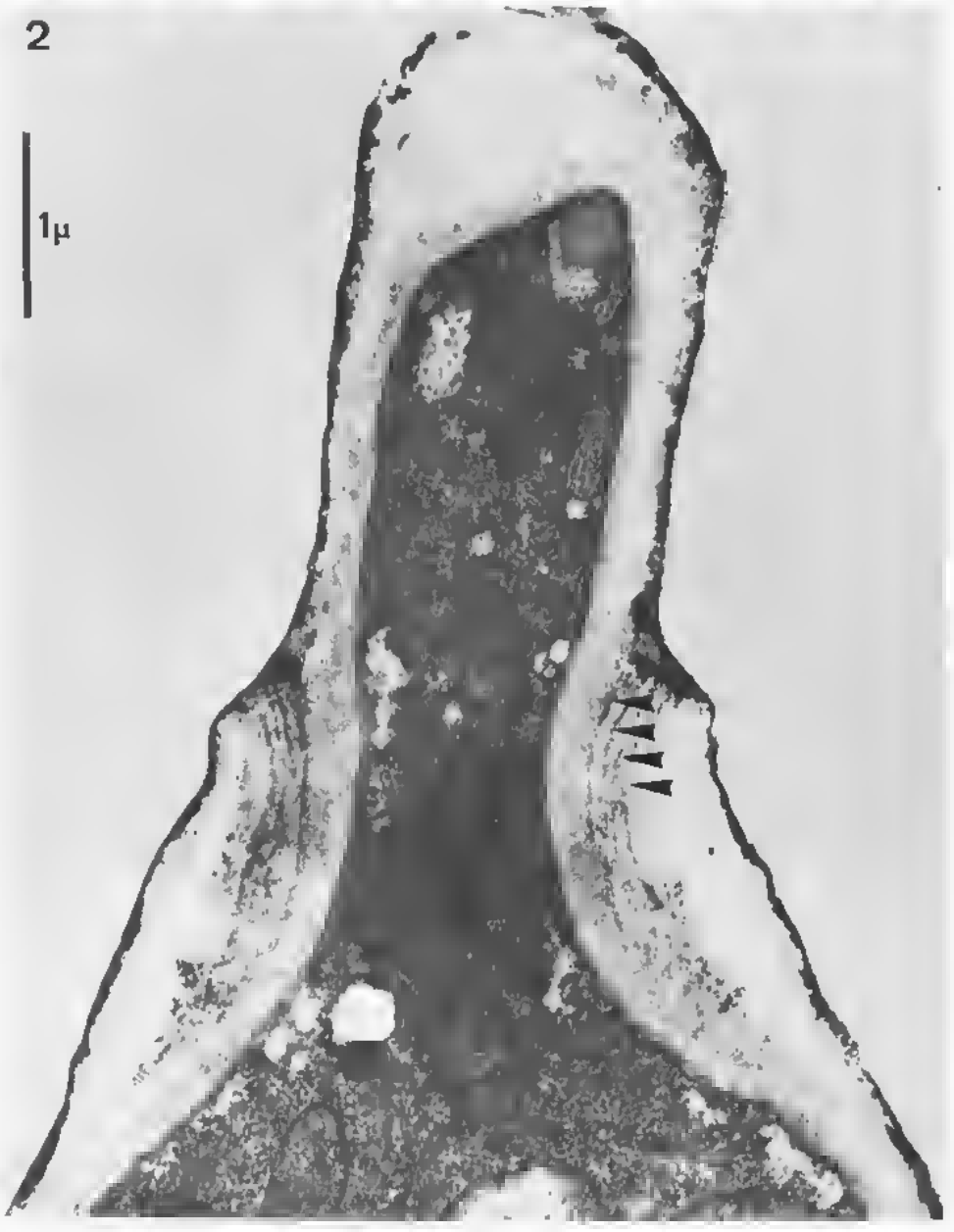
Structure de l'épaississement pariétal du col de la phialide de Aspergillus tamarii M.E.T.

Fig. 1. — Deux phialides voisines sur une même ampoule aspergillaire montrent un épaississement semblable du col, à deux couches superposées (têtes de flèches) qui témoignent du fonctionnement synchrone des cellules sporogènes.

Fig. 2. — Épaississement pariétal du col plus prononcé chez une phialide âgée où la structure lamellaire est nettement visible. On peut dénombrer ici au moins quatre couches (têtes de flèches) correspondant à l'émission de quatre spores.

Source : MNHN, Paris





Source : MNHN, Paris

PLANCHE 15.

Détail des différentes strates pariétales au niveau du col des phialides de Stilbothamnium undipes M.E.T.

Fig. 1. — La paroi de la phialide (Ph) se clive en une couche externe C1 et une interne C2 qui s'applique au bourgeon conidien (B c) dont elle forme la paroi. Entre ces deux strates s'observe un épaississement pariétal lamellaire (E p) plus ou moins important selon l'activité sporogène de la cellule (on comparera sur ce point les figures 2 et 3)

Fig. 2. — Phialide jeune à cytoplasme dense. L'épaississement latéral du col est de faible amplitude et marqué par deux stries longitudinales. Coloration de THIERY.

Fig. 3. — Phialide beaucoup plus âgée comme en témoignent le contenu cellulaire vacuolisé et l'épaississement pariétal considérable au niveau du col. On y dénombre environ 7 stries longitudinales reflétant le nombre de conidies produites. Le bourgeon conidien (Bc) est toujours enveloppé par une strate interne de la paroi phialidique.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

PLANCHE 16.

Formation et clivage de la cloison entre phialides et conidies de Stilbothamnium nudipes M.E.T.

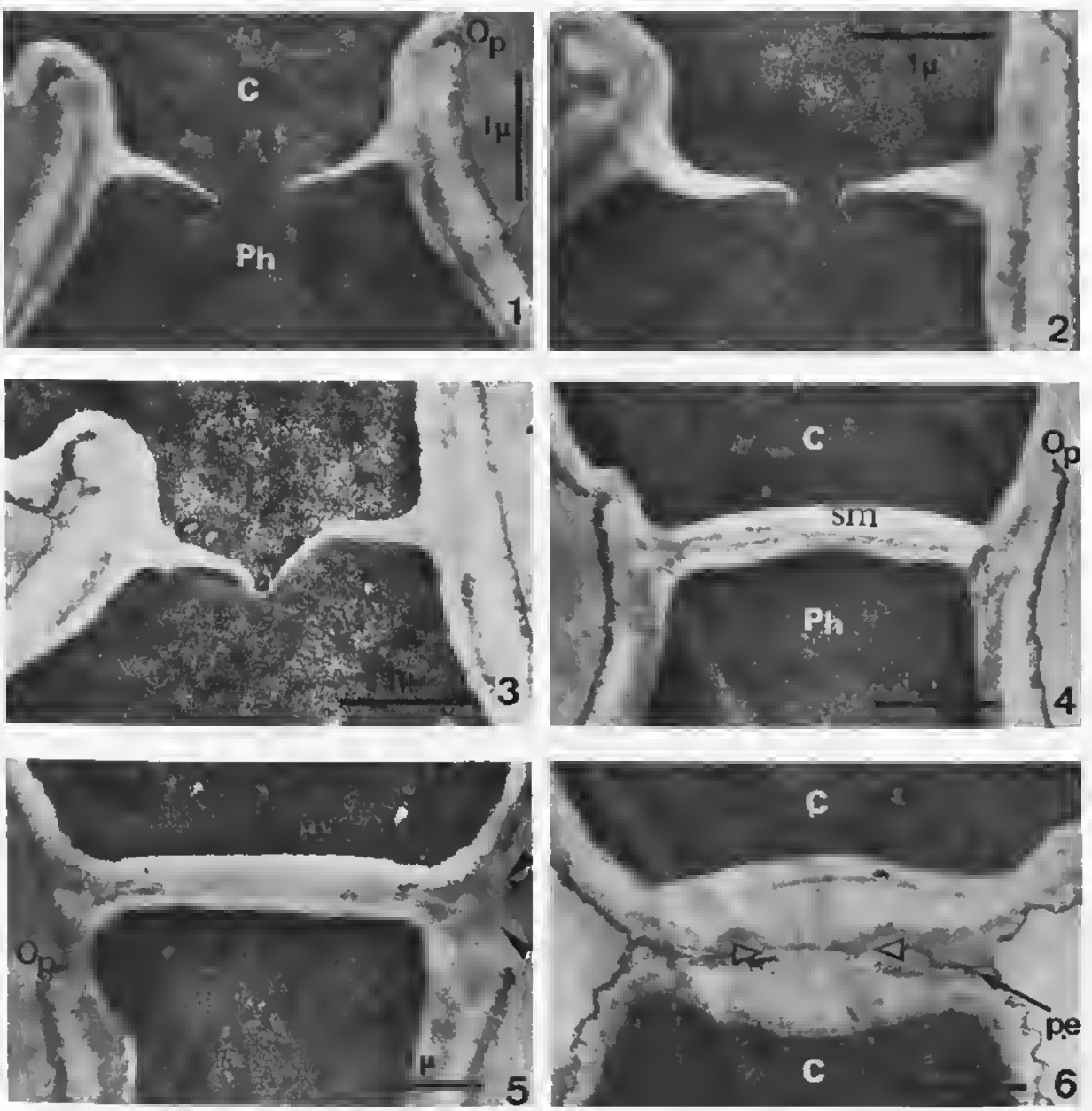
FIG. 1, 2 et 3. — Stades successifs de la progression centripète de la paroi latérale conduisant à un septum de type hyphal, en dessous de l'orifice de la phialide (OP). C : Conidie, Ph : Phialide.

FIG. 4. — Différenciation du sillon médian (Sm) et des deux strates parallèles constituant l'une la base de la conidie (C), l'autre entourant le sommet de la phialide (Ph).

FIG. 5. — La cloison se trouve portée à l'extérieur du rol et ses composants latéraux commencent à se désagréger (têtes de flèches).

FIG. 6. — Cloison mitoyenne entre deux conidies. Elle est fortement épaissie et commence à subir un clivage centripète au niveau du sillon transverse. La pellicule externe (pe) se reconstitue au fur et à mesure de la séparation.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 17.

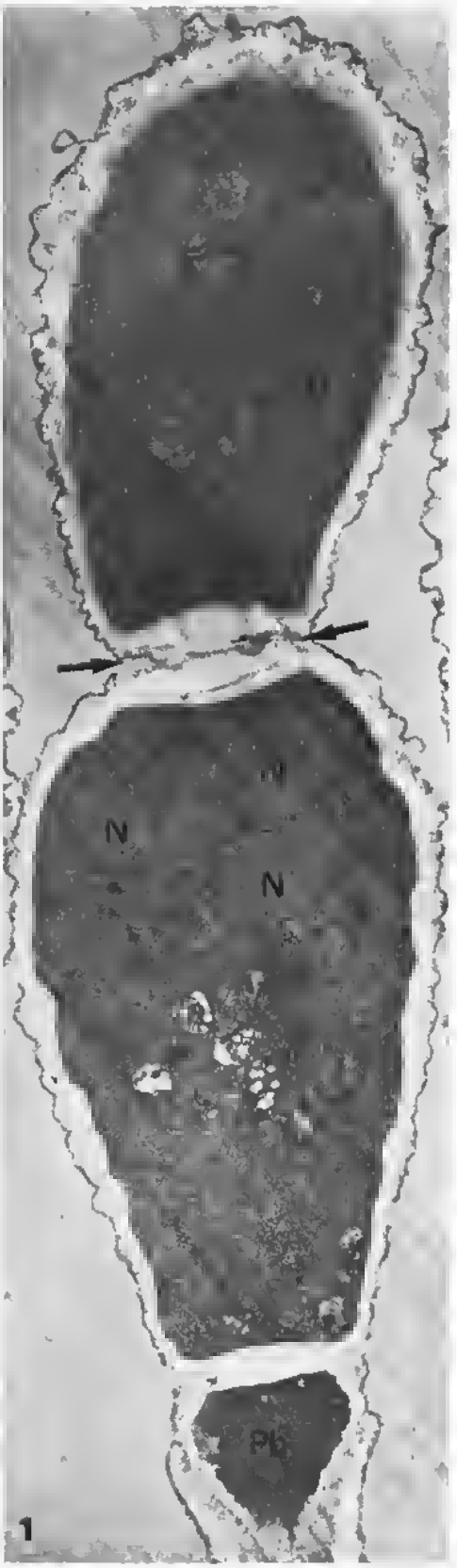
Clivage du septum et libération des conidies en chaînes de Stilbothamnium nudipes.
Fig. 1 : M.E.T., Fig. 2 à 5 : M.E.B.

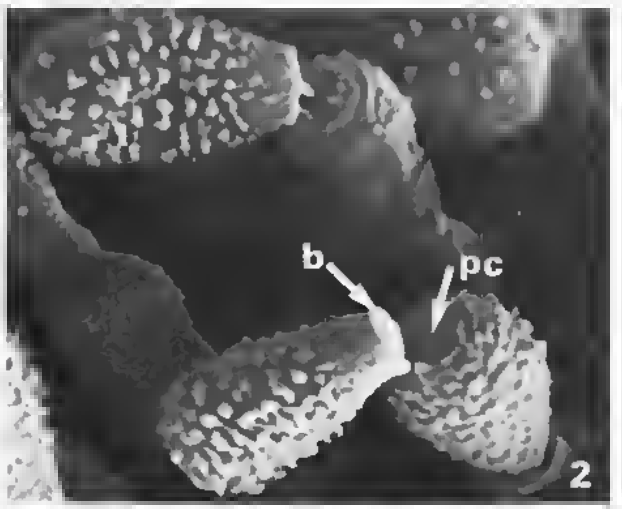
Fig. 1. — Chaînette de deux conidies en voie d'individualisation. Le clivage n'a pas encore atteint la zone centrale du septum entre les deux conidies. La spore inférieure contient au moins trois noyaux.

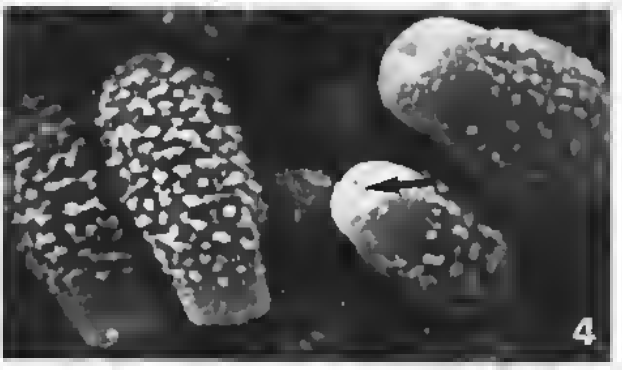
Fig. 2. — Séparation des conidies ; stade ultérieur à la figure 1. Les conidies révèlent une surface d'arcolement formée d'un plateau central (p c) uniforme (au niveau de la zone commune) entouré d'un bourrelet périphérique (b).

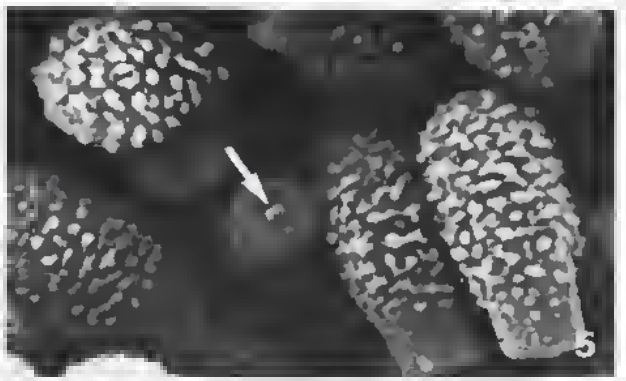
Fig. 3 à 5. — La maturation entraîne peu à peu la restriction du plateau central qui se trouve finalement limité à une sorte de bouton (flèches fig. 4 et 5). Les spores restent aplaties à la base où elles sont faiblement ornementées.

Source : MNHN, Paris









Source : MNHN, Paris

PLANCHE 18.

Maturation de la paroi sporale de Aspergillus tamarii M.E.T.

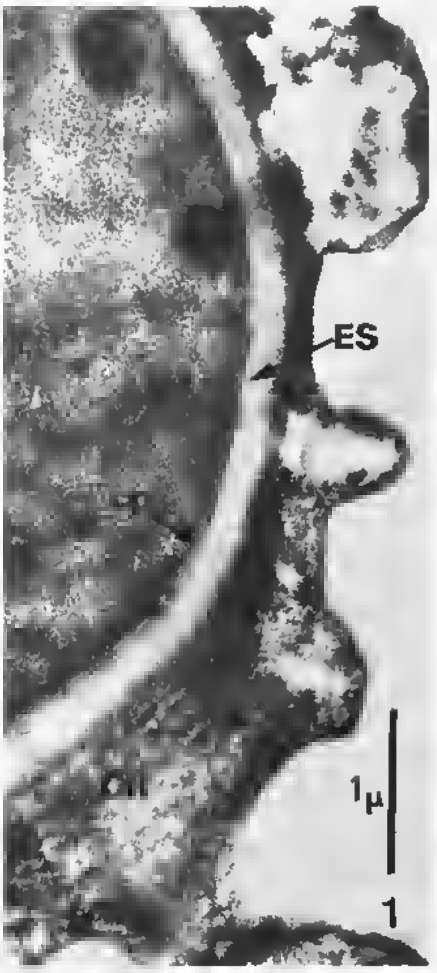
Fig. 1. — Différenciation de l'endospore (E s) et désagrégation des constituants fibrillaires de la gaine commune qui emplissent les ornementations externes. c p : couche polysaccharidique interne. Coloration de THIERY.

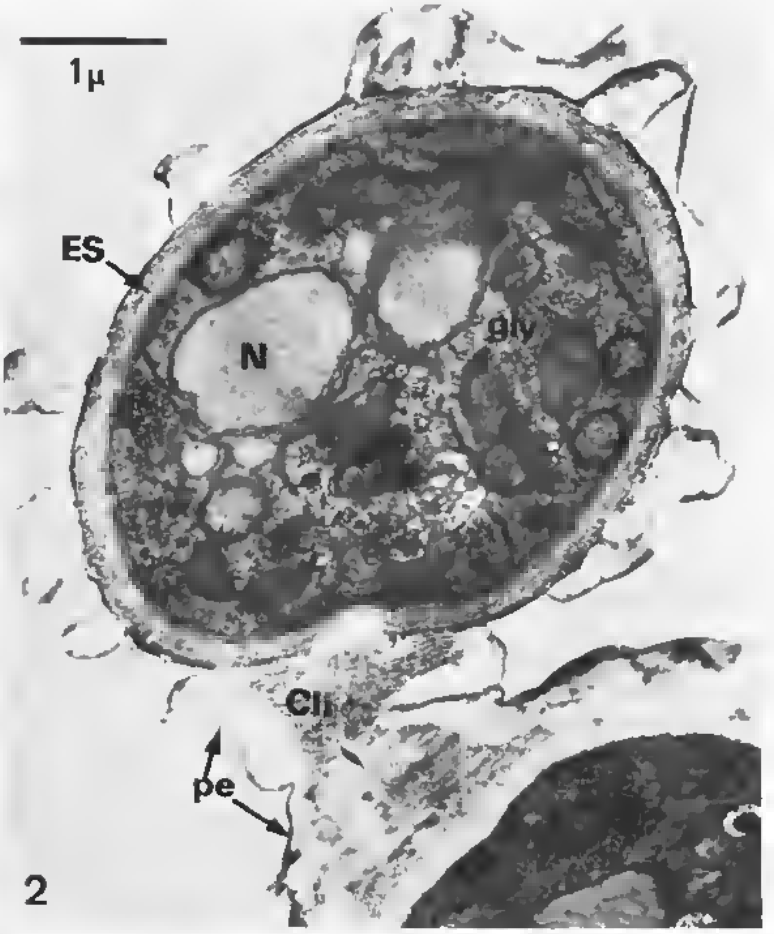
Fig. 2. — Spore mûre non détachée. On distingue encore, dans le connectif, le pore étiré et la structure lamellaire (Cli). La pellicule externe se poursuit du connectif à la spore. Gly : Glycogène. Coloration de THIERY.

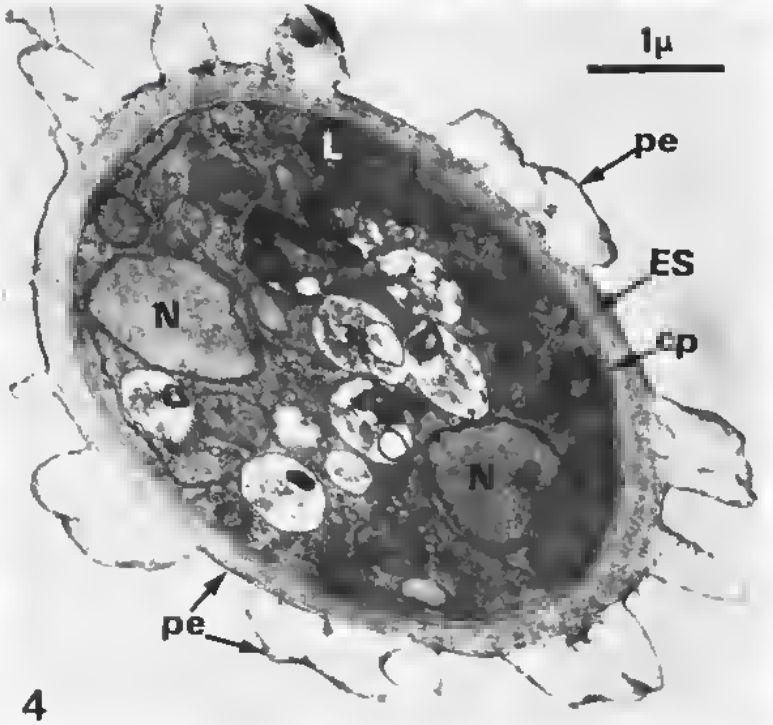
Fig. 3. — Aspect superficiel d'une conidie montrant la présence de faisceaux de fibrilles entrecroisés (rodlets). Réplique de Carbone.

Fig. 4. — Spore libérée. La paroi est constituée par une fine courbe polysaccharidique enveloppant l'espace périplasmique (c p), puis une couche fondamentale (endospore) d'épaisseur et de texture régulière et une pellicule externe repliée en digitations dont le contenu résiduel semble avoir disparu. La conidie est binucléée et contient des réserves lipidiques et glycogéniques. Coloration de THIERY.

Source : MNHN, Paris







Source : MNHN, Paris

PLANCHE 19.

Conidiogenèse ucrapète chez Cladosporium cladosporioides M.E.T.

Fig. 1. — Conidiophore. Les deux cicatrices apicales (flèches) sont contiguës et l'on n'observe ici aucun signe d'allongement du conidiophore. L : lipides.

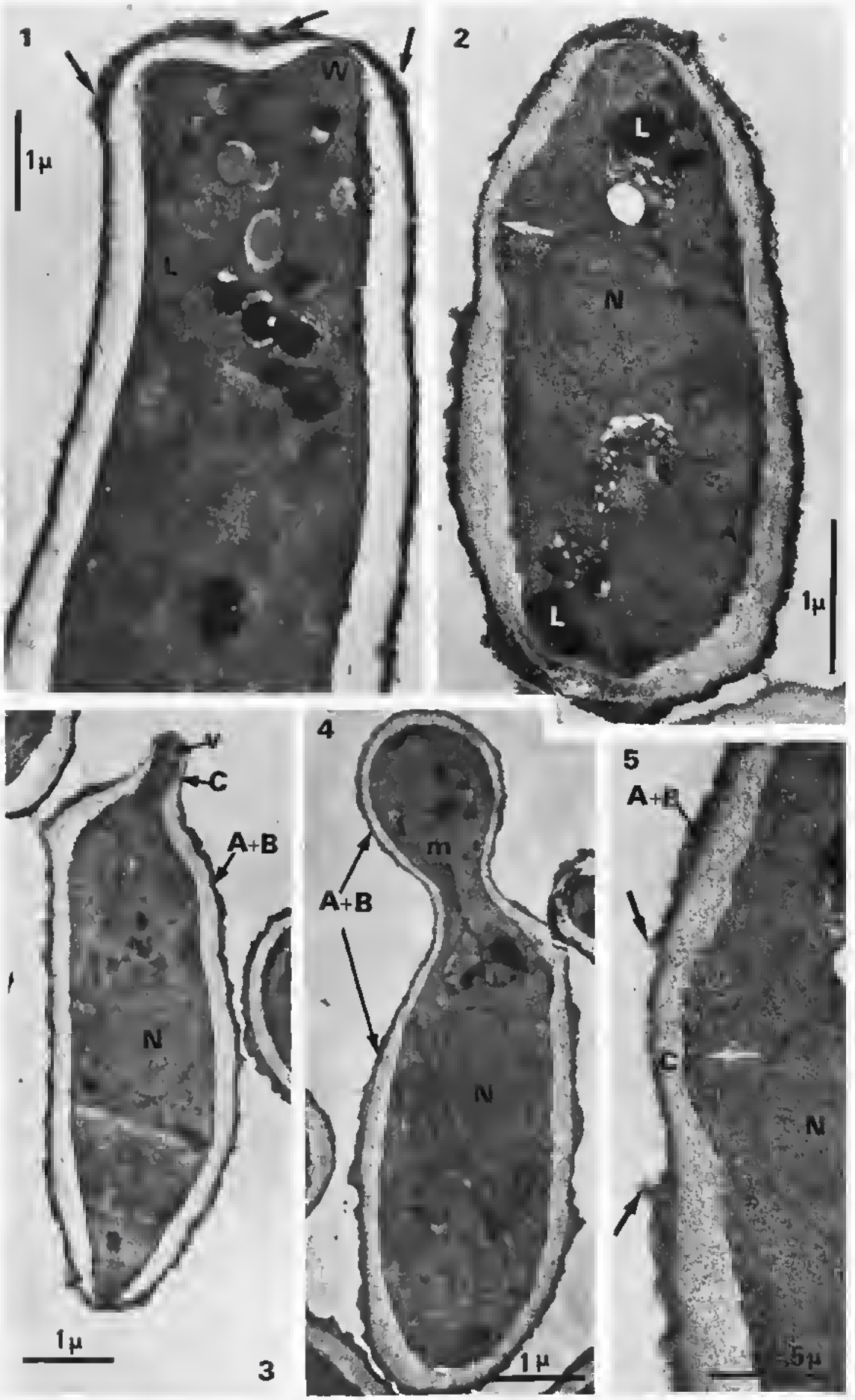
Fig. 2. — Premier stade de formation d'un bourgeon latéral (flèche blanche) sur une conidie intercalaire, à deux cicatrices opposées. On observe un noyau central et des globules lipidiques groupés principalement aux extrémités de la cellule. Coloration de THIERY.

Fig. 3. — Stade plus avancé de bourgeonnement secondaire. On note la présence de microvésicules (v) nombreuses dans le petit bourgeon apical seulement enveloppé d'une mince paroi issue de C. Coloration de THIERY.

Fig. 4. — Reconstitution des composants pariétaux externes autour de la conidie fille et migration des organites cytoplasmiques. Coloration de THIERY.

Fig. 5. — Détail de la figure 2 : La pellicule externe et la couche B sont rompues autour d'une légère protubérance du cytoplasme enveloppée de la strate pariétale interne. Coloration de THIERY.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 20.

Conidiophores et conidies de Cladosporium.
Fig. 1, 2, 3 et 4 : M.E.B., Fig. 5 et 6 : M.P.

Fig. 1 et 2. — Conidiophores de *Cladosporium herbarum*. On observe nettement les cicatrices étagées le long des filaments fertiles. Elles sont parfois groupées sur des nodules (flèches).

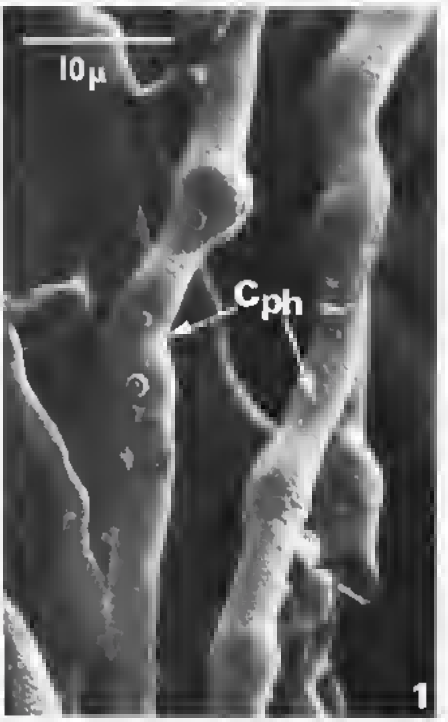
En 2 : Détail des cicatrices conidiennes formées d'un bourrelet circulaire latéral (Bl) entourant un dôme central (DC) percé d'un pore.

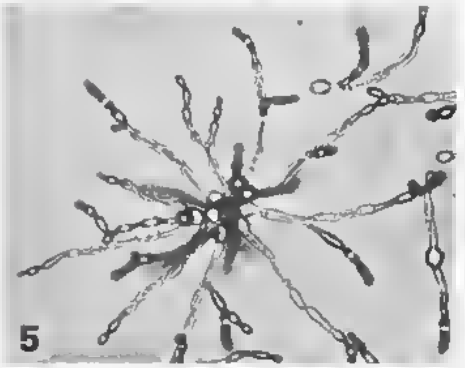
Fig. 3. — *Cladosporium cladosporioides*. Sommet de conidiophore auquel est encore attaché un bouquet de conidies. Les cicatrices d'insertion ont la même structure que chez *Cladosporium herbarum*.

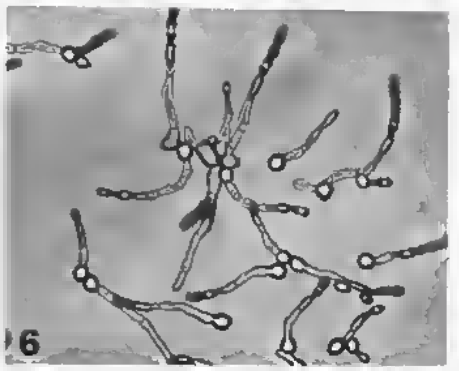
Fig. 4. — Conidie bourgeonnant une conidie fille.

Fig. 5 et 6. — Germination des conidies en milieu liquide, donnant directement naissance à une chaîne conidienne ou à un conidiophore court. G. × 500.

Source : MNHN, Paris







Source : MNHN, Paris

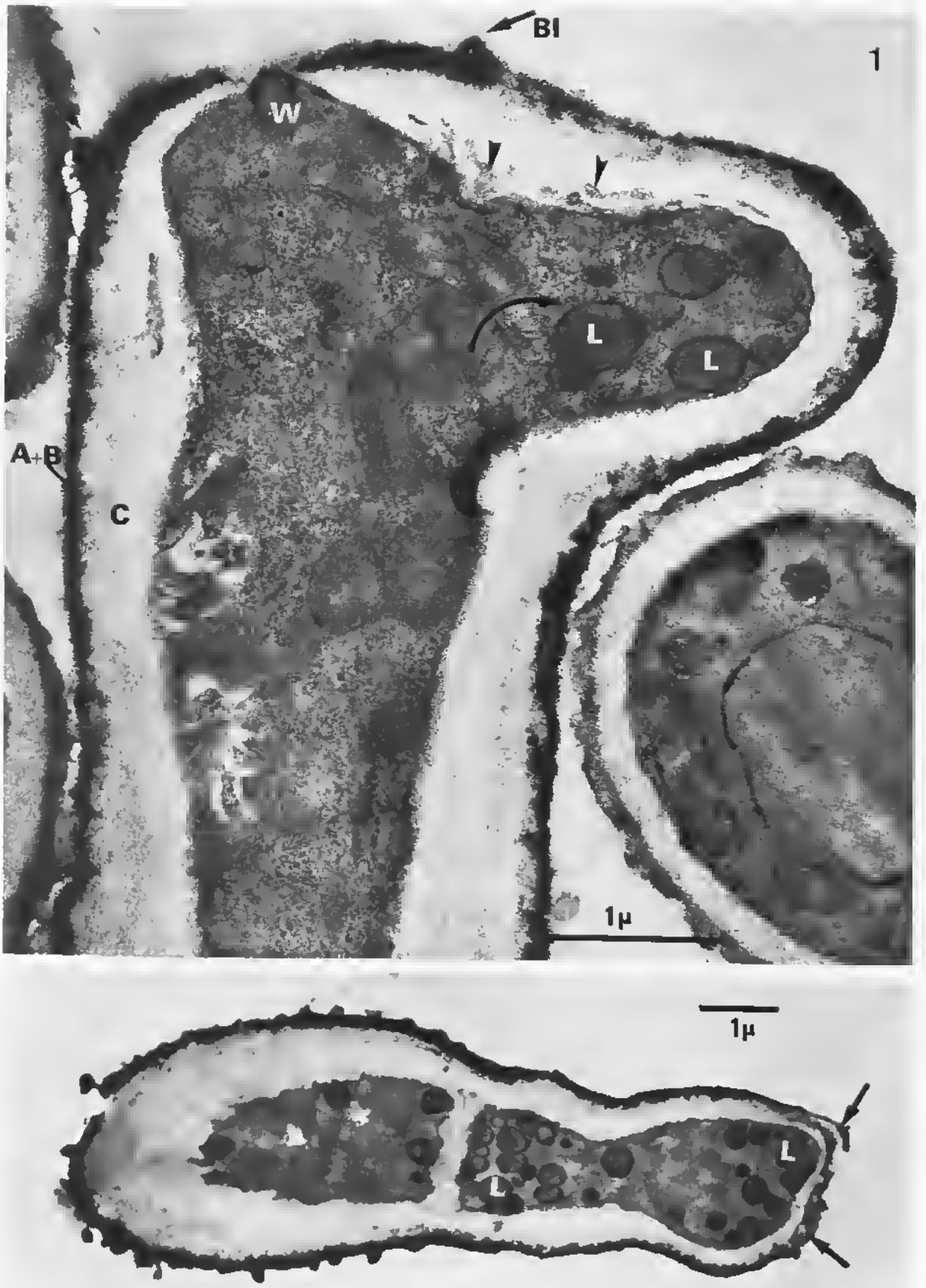
PLANCHE 21.

Conidiophore et conidie de Cladosporium herbarum M.E.T.

Fig. 1. — Conidiophore jeune. La mélanisation est localisée aux strates externes de la paroi. Au sommet, on observe la cicatrice d'insertion d'une conidie (flèches). Le bourrelet latéral (Bl) est en continuité avec les strates externes du conidiophore tandis que la couche inférieure du septum conidien, qui constitue le plateau central, s'insinue latéralement dans la paroi fondamentale. Sur la droite on observe la repousse latérale du conidiophore (sens de la flèche). L : lipides, W : corps de Woronine.

Fig. 2. — Ramo-conidie (conidie à deux points de bourgeonnement sécondaire). Dans cette cellule conidienne allongée, cloisonnée, on observe deux cicatrices apicales juxtaposées, dans deux plans différents. L'ornementation est beaucoup plus marquée dans la cellule basale. On notera l'abondance des réserves lipidiques.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 22.

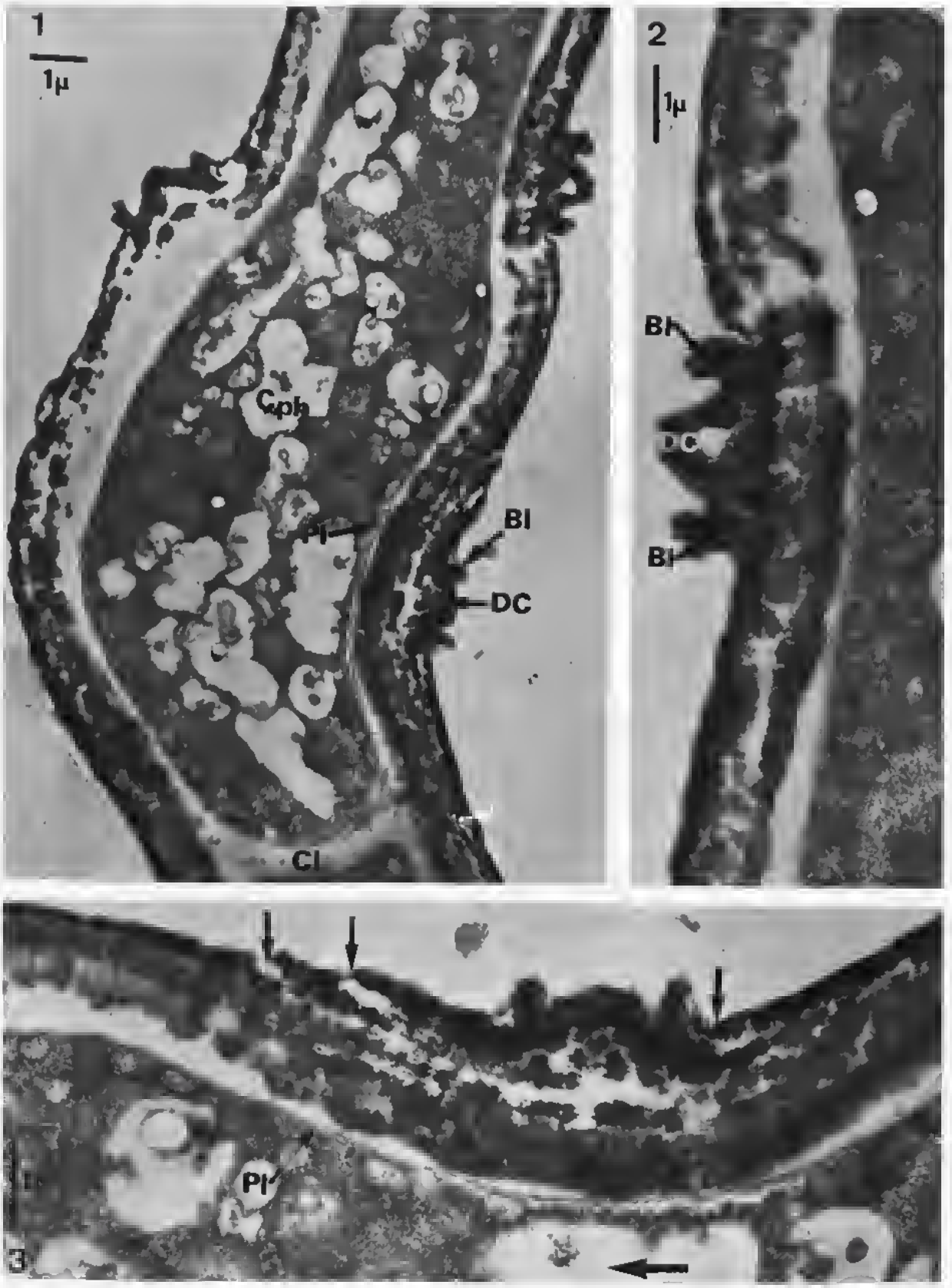
Conidiophores de Cladosporium herbarum M.E.T.

Fig. 1. — La zone fertile du conidiophore (C ph) est cloisonnée à la base (Cl). On peut observer ici 3 cicatrices étagées. Chacune d'elles est constituée d'un dôme central (Dc) entouré d'un bourrelet circulaire (Bl). Les strates mélanisées sous-jacentes sont superposées, respectant une strate hyaline contre le plasmalemme (Pl).

Fig. 2. — Détail d'une cicatrice conidienne avec dôme central (Dc) et bourrelet latéral (Bl).

Fig. 3. — Détail de la superposition des couches mélanisées qui souligne l'origine endogène de la paroi de la repousse du conidiophore après l'émission d'une conidie. Sur la photo, le sens d'accroissement est de la droite vers la gauche. Au niveau des flèches on observe la rupture successive des strates pariétales externes du conidiophore sous l'effet de la repousse axiale. La couche hyaline, à la face interne de C, persiste tout au long du conidiophore.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

PLANCHE 23.

Stades mûrs et germinations de conidies de Cladosporium M.E.T.

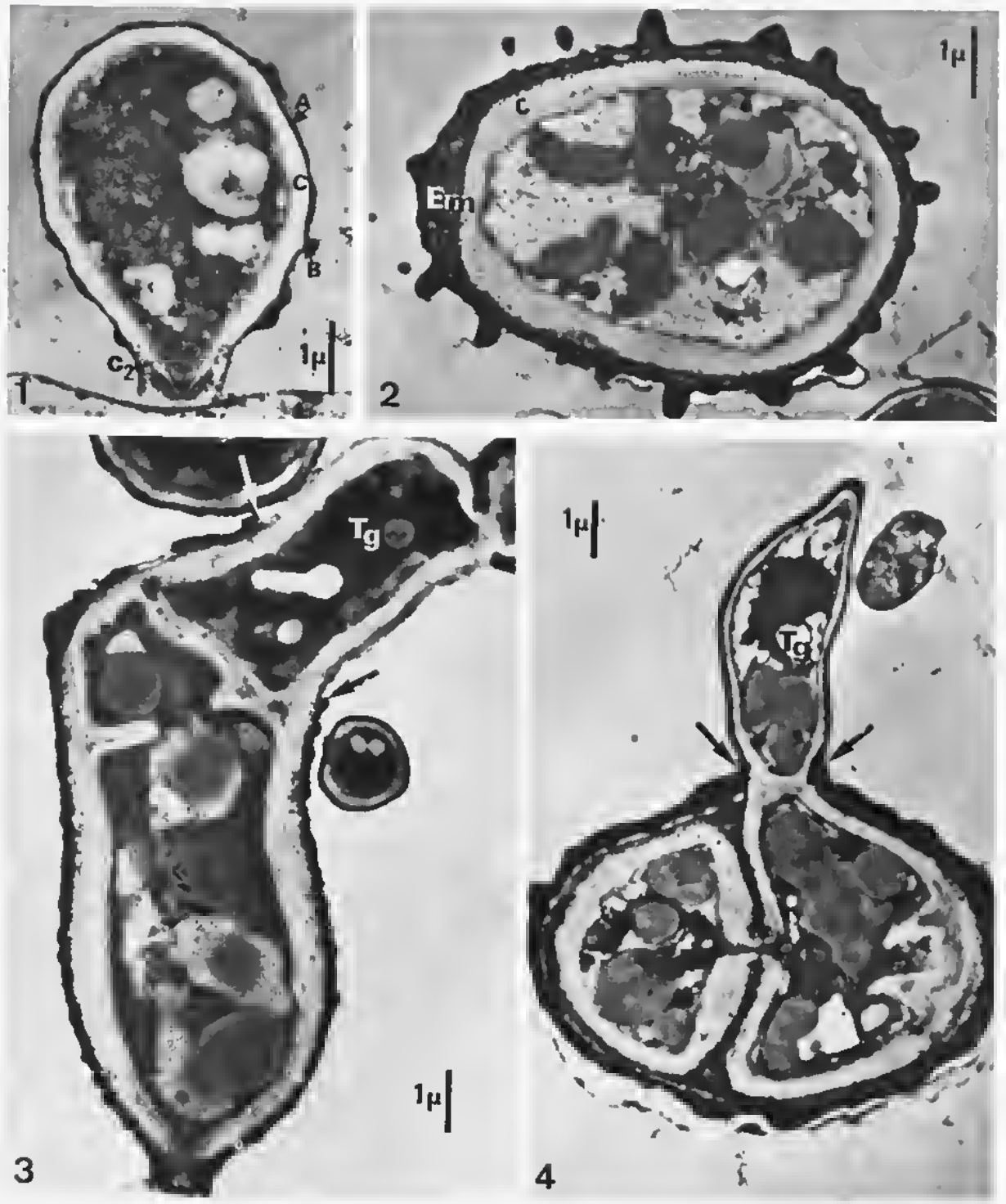
Fig. 1. — Conidie de *C. cladosporioides*. La paroi ornementée conserve les constituants fondamentaux A, B et C. L'orifice basal, au milieu de la cicatrice, est obturé par un corps de Woronine. La pigmentation n'atteint pas la couche C2.

Fig. 2. — *Cladosporium herbarum*. Entre la couche fondamentale lamellaire C2 et les strates externes C1, B et A, on distingue ici une nouvelle enveloppe granuleuse, l'endospore, imprégnée de mélanine (E m).

Fig. 3. — Germination d'une ramo-conidie de *Cladosporium cladosporioides*. La sortie du tube germinatif (T g) entraîne la rupture de l'enveloppe mélanisée de la paroi latérale. Sa paroi provient de la couche fondamentale de la spore.

Fig. 4. — Germination d'une conidie de *Cladosporium herbarum*. On notera l'atténuation des structures ornementales en milieu liquide (comparer avec la figure 2). Les couches externes sont fracturées et le filament germinatif montre la même genèse pariétale que précédemment.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

IMPRIMERIE NATIONALE

1 564 013 T 72

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

: 82

PUBLICATIONS DES LABORATOIRES DU MUSÉUM

En vente à l'adresse de chaque laboratoire

Adansonia. Laboratoire de Phanérogamie, 16, rue de Buffon, 75005 Paris.

Alexanor. Laboratoire d'Entomologie générale et appliquée, 45, rue de Buffon, 75005 Paris.

Annales de Paléontologie (Vertébrés et Invertébrés). Laboratoire de Paléontologie, 8, rue de Buffon, 75005 Paris.

Annales de la Société Entomologique de France. Laboratoire d'Entomologie générale et appliquée.

Annuaire des Arachnologistes mondiaux. Laboratoire de Zoologie (Arthropodes), 61, rue de Buffon, 75005 Paris.

Annuaire des Myriapodologistes mondiaux. Laboratoire de Zoologie (Arthropodes).

Bulletin d'Écologie. Laboratoire d'Écologie générale, 4, avenue du Petit Château, 91800 Brunoy.

Bulletin de Liaison des Musées d'Histoire naturelle. Inspection générale des Musées d'Histoire naturelle de Province, Service national de Muséologie, 57, rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05.

Bulletin de la Société Entomologique de France. Laboratoire d'Entomologie générale et appliquée.

Bulletin de la Société d'Ethnozoologie et d'Ethnobotanique. Laboratoire d'Ethnobotanique et d'Ethnozoologie, 43, rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05.

Cahiers des Naturalistes. Laboratoire de Zoologie (Vers), 61, rue de Buffon, 75005 Paris.

Cahiers de Paléontologie. Laboratoire de Paléontologie.

Cryptogamie (Mycologie, Algologie, Bryologie et Lichénologie). Laboratoire de Cryptogamie, 12, rue de Buffon, 75005 Paris.

Cybium. Laboratoire d'Ichtyologie générale et appliquée, 43, rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05.

Entomologiste (L'). Laboratoire d'Entomologie générale et appliquée.

Faune de l'Europe et du Bassin méditerranéen. Laboratoire d'Entomologie générale et appliquée.

Faune de Madagascar. Laboratoire d'Entomologie générale et appliquée.

Flore du Cambodge, du Laos et du Viet-Nam. Laboratoire de Phanérogamie.

Flore du Cameroun. Laboratoire de Phanérogamie.

Flore du Gabon. Laboratoire de Phanérogamie.

Flore de Madagascar et des Comores. Laboratoire de Phanérogamie.

Flore de la Nouvelle Calédonie et Dépendances. Laboratoire de Phanérogamie.

Index Seminum. Service des Cultures, 43, rue de Buffon, 75005 Paris.

Journal d'Agriculture traditionnelle et de Botanique appliquée. Laboratoire d'Ethnobotanique et d'Ethnozoologie.

Mammalia. Laboratoire de Zoologie (Mammifères et Oiseaux), 55, rue de Buffon, 75005 Paris.

Objets et Mondes. Laboratoire d'Ethnologie. Musée de l'Homme, Palais de Chaillot, place du Trocadéro, 75116 Paris.

Revue d'Écologie et Biologie du Sol. Laboratoire d'Écologie générale.

Revue française d'Entomologie. Laboratoire d'Entomologie générale et appliquée.

Revue internationale Acarologia. Laboratoire de Zoologie (Arthropodes).

Revue de Nématologie, Laboratoire de Zoologie (Vers).

Source : MNHN, Paris